MEDICAL SCHOOL
LIBRARY

Biochemische Zeitschrift.

Beiträge zur chemischen Physiologie und Pathologie.

Herausgegeben von

E. Buchner-Würzburg, P. Ehrlich-Frankfurt a. M., F. Hofmeister-Straßburg i. Els., C. von Noorden-Wien, E. Salkowski-Berlin, N. Zuntz-Berlin

unter Mitwirkung von

M. Ascoli-Catania, L. Asher-Bern, J. Bang-Lund, G. Bertrand-Paris, A. Bickel-Berlin, F. Blumenthal-Berlin, A. Bonanni-Rom, F. Bottazzi-Neapel, G. Bredig-Karlsruhe i. B., A. Durig-Wien, F. Ehrlich-Breslau, G. Embden-Frankfurt a. Main, S. Flexner-New York, S. Fränkel-Wien, E. Freund-Wien, U. Friedemann-Berlin, E. Friedmann-Berlin, O. v. Fürth-Wien, G. Galeotti-Neapel, H. J. Hamburger-Groningen, A. Heffter-Berlin, V. Henri-Paris, W. Heubner-Göttingen, R. Höber-Kiel, M. Jacoby-Berlin, R. Kobert-Rostock, M. Kumagawa-Tokio, F. Landolf-Buenos-Aires, L. Langstein-Berlin, P. A. Levene-New York, L. von Liebermann-Budapest, J. Loeb-New York, W. Loeb-Berlin, A. Loewy-Berlin, A. Magnus-Levy-Berlin, J. A. Mandel-New York, L. Marchlewski-Krakau, P. Mayer-Karlsbad, J. Meisenheimer-Berlin, L. Michaelis-Berlin, J. Morgenroth-Berlin, W. Nernst-Berlin, W. Ostwald-Leipzig, W. Palladin-St. Petersburg, W. Pauli-Wien, R. Pfeiffer-Breslau, E. P. Pick-Wien, J. Pohl-Prag, Ch. Porcher-Lyon, F. Rochmann-Breslau, P. Rona-Berlin, S. Salaskin-St. Petersburg, N. Sieber-St. Petersburg, M. Siegfried-Leipzig, S. P. L. Sörensen-Kopenhagen, M. Spiro-Straßburg, E. H. Starling-London, J. Stoklasa-Prag, A. Stutzer-Königsberg i. Pr., F. Tangl-Budapest, H. v. Tappeiner-München, H. Thoms-Berlin, J. Traube-Charlottenburg, A. J. J. Vandevelde-Gent, A. Wohl-Danzig, J. Wohlgemuth-Berlin.

Redigiert von

C. Neuberg-Berlin.

Siebenunddreißigster Band.

Berlin.
Verlag von Julius Springer.
1911.

UNIV OF CALIF
MEDICAL SCHOOL

Druck von Oscar Brandstetter in Leipzig.

Inhaltsverzeichnis.

Seite

Schloßmann, A., und **H. Murschhauser.** Über den Einfluß mäßiger Temperaturschwankungen der umgebenden Luft auf den respiratorischen Stoffwechsel des Säuglings 1

Schloßmann, A., und **H. Murschhauser.** Über den Einfluß des Schreiens auf den respiratorischen Stoffwechsel des Säuglings 23

Takahashi, Dengo. Bemerkungen zur Zuckerbestimmung im Blute . 30

Schwarz, Carl. Über die Quellung und Entquellung ruhender und tätig gewesener Froschmuskeln in isotonischen Kochsalzlösungen . . 34

Michaelis, L., und **P. Rona.** Über die Verteilung der reduzierenden Substanzen im Säugetierblut 47

Kanitz, Aristides. Bezüglich des Reaktionsoptimums bei der Invertinwirkung 50

Costantino, A. Über den Gehalt der (weißen und roten) quergestreiften und glatten Muskeln verschiedener Tiere an Kalium, Natrium u. Chlor 52

Forssman, J. Die Herstellung hochwertiger spezifischer Schafhämolysine ohne Verwendung von Schafblut 78

Palitzsch, Sven. Über die Messung und die Größe der Wasserstoffionenkonzentration des Meerwassers 116

Palitzsch, Sven. Über die Verwendung von Methylrot bei der colorimetrischen Messung der Wasserstoffionenkonzentration 131

Bubanović, F. Über den Blutfarbstoffaustritt unter dem Einfluß des Kohlenmonoxydes 139

Neuberg, Carl, und **Migaku Ishida.** Die Bestimmung der Zuckerarten in Naturstoffen 142

Neuberg, C., und **L. Karczag.** Über zuckerfreie Hefegärungen. VI . 170

Berichtigung 176

Stromberg, Heinrich. Methodisches über Blutgerinnung, nebst Bemerkungen über das Wesen des Gerinnungsvorganges 177

Stromberg, Heinrich. Veränderungen der Blutgerinnung durch Blutverluste 218

Kepinow, Leon. Über Beeinflussung der Autolyse durch Jod . . . 238

Tanaka, Tasuke. Zur Kenntnis der Milzenzyme 249

Andersen, A. C. Notiz über den Nachweis und die Bestimmung des Harnzuckers 262

Fingerling, Gustav. Die Verwertung der in den Futtermitteln enthaltenen Phosphorverbindungen durch Wiederkäuer 266

Seite

Ditz, Hugo und **Friedrich Bardach.** Über die Bestimmung von Phenol und Parakresol in ihren Gemischen 272

Euler, Hans und **Hjalmar Ohlsén.** Über den Einfluß der Temperatur auf die Wirkung der Phosphatese 313

Reicher, K. und **E. H. Stein.** Beiträge zur Physiologie und Pathologie des Kohlenhydratstoffwechsels 321

Shibata, Nagamichi. Ein experimenteller Beitrag zur Kenntnis der Fettwanderung bei der Phosphorvergiftung mit Berücksichtigung der Herkunft des Fettes im Tierorganismus 345

Shibata, Nagamichi, und **Shigekiyo Endo.** Vergleichende histologische und chemische Untersuchungen über den Fettgehalt der inneren Organe 399

Loeb, Jacques, und **Hardolph Wasteneys.** Die Beeinflussung der Entwicklung und der Oxydationsvorgänge im Seeigelei (Arbacia) durch Basen 410

Schorr, Carl. Untersuchungen über physikalische Zustandsänderungen der Kolloide. XII 424

Pingerling, G., und **A. Hecking.** Zur Frage der quantitativen Trennung der organischen Phosphorverbindungen von den Phosphaten in Futtermitteln 452

Ustjanzew, W. Die energetischen Äquivalente der Verdauungsarbeit bei den Wiederkäuern (Schafe) 457

Yoshimura, Kiyohisa. Über das Vorkommen einiger organischer Basen im Fleisch des Wildkaninchens 477

White, George F. Ein neues Viscosimeter und seine Anwendung auf Blut und Blutserum 482

Neuberg, Carl. Biochemische Umwandlung von α-Pyrrolidincarbonsäure in n-Valeriansäure und d-Aminovaleriansäure 490

Neuberg, Carl. Über die Herkunft der optisch-aktiven Valeriansäure bei der Eiweißfäulnis 501

Neuberg, Carl. Wird d-Ornithin bei der Fäulnis racemisiert? . . . 507

Schrauth, Walter, und **Walter Schoeller.** Biochemische Untersuchungen über aromatische Quecksilberverbindungen 510

Über den Einfluß mäßiger Temperaturschwankungen der umgebenden Luft auf den respiratorischen Stoffwechsel des Säuglings.

Von

A. Schloßmann und H. Murschhauser.

(Aus dem Laboratorium der Kinderklinik in Düsseldorf.)

(Eingegangen am 28. August 1911.)

Mit 12 Figuren im Text.

Bei unseren bisherigen Untersuchungen über den respiratorischen Stoffwechsel des Säuglings haben wir den Einfluß, den die Temperatur der umgebenden Luft auf die Umsetzungsvorgänge im Körper hat, nicht besonders besprochen. Es finden sich zwar in den Protokollen immer genaue Angaben darüber, bei welcher Temperatur der Versuch vorgenommen worden ist; denn eine möglichst akurate Temperaturbestimmung ist ja bei allen Versuchen, bei denen man Gase zu messen hat, von ausschlaggebender Bedeutung. Wir haben aber keinen Wert darauf gelegt, daß sich nun alle unsere Versuche auch bei absolut gleicher Temperatur abspielen. Wir mußten daher der Frage näher treten, ob Differenzen in der Temperatur der umgebenden Luft, wie wir sie in unseren Versuchen notiert hatten, etwa an und für sich schon die Stoffwechselvorgänge beeinflussen können und ob vielleicht durch Schwankungen in dieser Richtung Korrekturen unserer Ergebnisse sich nötig machen.

Auf der einen Seite sind die Temperaturgrenzen, innerhalb deren sich bisher die Gesamtheit unserer Versuche abgespielt hat, sehr enge; in der Regel wurde im Versuchsraum eine Wärme von ca. 19 bis 20° gemessen. Die obere und untere Grenze liegt bei 17,4 bzw. 22°. Die Versuchs-

anordnung in dem von uns benutzten Apparate gestattet ja die Temperatur im eigentlichen Versuchsraum beliebig, d. h. innerhalb weiter Grenzen einzustellen und ziemlich konstant zu erhalten. Selbst wenn die Lufttemperatur im ganzen Versuchszimmer recht beträchtlich absticht von der, bei der sich der eigentliche Versuch abspielen soll, erfolgt die Einstellung im eigentlichen Versuchskasten sehr rasch, weil ja die Wassermenge, die nach dem Herablassen des Kastens ins Wasser diesen umgibt, im Verhältnis zum Volumen der Kastenluft eine sehr große ist. (Der Inhalt des Kastens ist 0,21 cbm, der der Wanne 1,075 cbm.) Damit ist die Möglichkeit der willkürlichen Beeinflussung der Lufttemperatur während des Versuches gegeben, indem man durch Zusetzen von kaltem oder warmem Wasser das den Kasten umgebende Medium je nach seinem Belieben einstellen kann. Wenn nun die Schwankungen der Temperatur wie oben erwähnt auch ohne Beachtung besonderer Vorsichtsmaßregeln nur ziemlich geringe waren, so durfte doch die Möglichkeit einer Beeinflussung der Resultate durch diese Ungleichheit der Versuchsbedingungen nach dieser Richtung hin nicht ignoriert werden; es schien uns vielmehr nötig, besondere Versuche zur Klärung dieser Frage anzustellen. Denn wir wissen ja, daß der Säugling in mancher Hinsicht und gerade auch in bezug auf Temperatureinflüsse sich anders verhält als der Erwachsene. Das gilt in erster Linie von anormalen Säuglingen und tritt besonders klar bei Frühgeburten in Erscheinung. Hier ist das Unvermögen der Temperaturregulierung so ausgesprochen, daß diese Kinder häufig genug in ein erwärmtes Medium gebracht werden müssen, um die Abkühlung durch Ausstrahlung hintanzuhalten. Auch an und für sich von vornherein normale Kinder zeigen unter pathologischen Verhältnissen, z. B. bei Stoffwechselstörungen, eine Temperaturlabilität, die heute geradezu pathognostisch verwertbar ist, um einen gesunden Säugling von einem nicht mehr normalen zu unterscheiden. Es konnte daher wohl der Einwand erhoben werden, ob nicht gerade bei Versuchen an Säuglingen die beobachteten Temperaturunterschiede eine das Resultat beeinflussende Rolle gespielt haben, obschon ja für den Erwachsenen innerhalb der Breite, in denen unsere Temperaturen differieren, eine meßbare Beeinflussung des Stoffwechsels nicht

statthat. Diese ganze Frage ist noch nach mancher Richtung umstritten[1]) und wir finden eine Reihe von Differenzen in der Beurteilung des Einflusses, den starke Erhöhung und Erniedrigung der Temperaturen in Hinsicht auf CO_2-Ausscheidung und O-Verbrauch ausüben. Wir haben uns daher auch der experimentellen Erörterung dieser Dinge zugewandt; über die bei Meerschweinchen, und zwar jungen und alten, erzielten Beobachtungen wird demnächst Goetzsch in einer veterinärmedizinischen Inaugural-Dissertation und über den zeitlichen Ablauf der durch Temperaturunterschiede bedingten Veränderungen in CO_2-Ausscheidung und O-Verbrauch Murschhauser in dieser Zeitschrift berichten. Aber bei der uns jetzt speziell interessierenden Frage handelte es sich nur um Temperaturschwankungen innerhalb eines bestimmten und recht engbegrenzten Kreises, nämlich um es gleich zu fixieren zwischen 16 und 24° (genau zwischen 16,4 und 23,5°). Daß der Erwachsene diese Unterschiede durch physikalische Wärmeregulation ausgleicht und dazu eine Erhöhung des Stoffwechsels nicht vonnöten ist, kann man aus den vorliegenden Untersuchungen erschließen, wird im übrigen von Rubner ganz ausdrücklich festgelegt, indem er sagt: „Allerdings existiert (für die Person Br.) ein bedeutender Temperaturintervall von 15 bis gegen 30°, innerhalb dessen die Temperatur ganz ohne Wirkung blieb." (Die Gesetze des Energieverbrauchs, S. 205.)

Es war also für uns einfach die Aufgabe gegeben, festzustellen, ob für den Säugling die Verhältnisse eben so liegen. Wir mußten daher den Grundumsatz ein und desselben Kindes bei verschiedenen Temperaturen bestimmen. Zu den Anforderungen, die an und für sich an das Versuchskind zu stellen waren, nämlich daß es 18 Stunden keine Nahrung aufgenommen hatte und sich die 2 oder 3 Stunden des Versuches musterhaft ruhig und schlafend verhielt, trat die neue, daß die verschiedenen Temperaturen keinerlei Beeinflussung der Ruhe herbeiführen durften. Die Temperaturen nun, um die es sich handelt, werden erfahrungsgemäß von Kindern gut und ohne sichtliche Beeinträchtigung ihrer Stimmung und ihres

[1]) Rubner, Die Gesetze des Energieverbrauches. Leipzig u. Wien. Franz Deuticke 1902; ferner A. Loewy, Oppenheimers Handb. d. Biochem. 4, 199ff.; ferner A. Jaquet, Der respiratorische Gaswechsel. Asher u. Spiros Ergebn. d. Physiolog. II. Jahrg., 1. Abt., S. 505ff.

Verhaltens ertragen. Liegen die Differenzen doch innerhalb einer Breite, die an ein und demselben Tage unter natürlichen Verhältnissen oft genug überschritten wird. An Frühsommer- und Herbsttagen ist der Säugling oft genug größeren Schwankungen der Wärme innerhalb seiner Behausung ausgesetzt.

Durch Füllung der großen Wanne mit kaltem oder warmem Wasser konnten wir ohne Schwierigkeiten die Versuchsbedingungen modifizieren.

Die beiden Versuchsobjekte, die wir dabei benutzten, waren leider unterwertige Kinder, das eine (Haparta) in geringerem Maße als das andere (Lethen). Doch spielt diese Tatsache nicht ausschlaggebend mit; denn darüber kann kein Zweifel sein, wenn schon mehr oder minder atrophische Kinder durch die Temperaturdifferenzen nicht beeinflußt werden, so ist das bei vollgewichtigen mit Sicherheit auszuschließen. Umgekehrt würde aus einem abweichenden Verhalten untergewichtiger Kinder noch nicht der gleiche Schluß auf das Verhalten normaler zu ziehen sein. Schließlich war gerade Haparta vom normalen Gewicht nicht mehr gar zu weit entfernt.

I. Kind Haparta, Else, 1910/1844, geb. 30. Juni. Aufgenommen am 19. August 1910. Ernährungsstörung, Aufnahmegewicht 3150 g. Erbrechen und Durchfall. Im Urin: Eiweiß und Zucker positiv. Bekommt 7%ige Milchzuckerlösung, dann Buttermilch mit Sahnezusatz. Rasche und gute Reparation. Bei Beginn der Versuche ist das Kind noch auf einer Mindestnahrung (600 g). Im ganzen sind mit dem Kinde 5 Versuche gemacht, 3 bei Kälte, 2 bei Wärme. Die Einzelheiten sind aus den Protokollen ersichtlich. Das Resultat ergibt Tabelle I.

Tabelle I.

Haparta.

Nr. d. Vers.	Tag des Versuchs	Art des Versuchs	Alter des Kindes	Gewicht des Kindes	Oberfläche des Kindes	Versuchsdauer	Temperat.	Produzierte CO_2 pro kg u. Stunde		Konsumierter O_2 pro kg und Stunde		Produzierte CO_2 pro qm u. Stunde		Konsumierter O_2 pro qm u. Stunde	
			Tage	g	qm	Std.	°C	l	g	l	g	l	g	l	g
	1910														
1	27. IX.	Kälte-	90	4350	0,3188	2½	17,1	0,468	0,9170	0,550	0,7859	6,390	12,52	7,509	10,73
2	12. X.	Wärme-	105	4390	0,3208	3	23,4	0,444	0,8700	0,525	0,7502	6,078	11,91	7,194	10,28
3	25. X.	Kälte-	118	4550	0,3286	2	16,5	0,490	0,9601	0,574	0,8202	6,798	13,32	7,943	11,35
4	29. X.	Wärme-	122	4450	0,3237	3	23,3	0,443	0,8680	0,527	0,7531	6,094	11,94	7,250	10,36
5	2. XI.	Kälte-	126	4450	0,3237	3	16,3	0,433	0,8484	0,525	0,7502	5,956	11,67	7,222	10,32

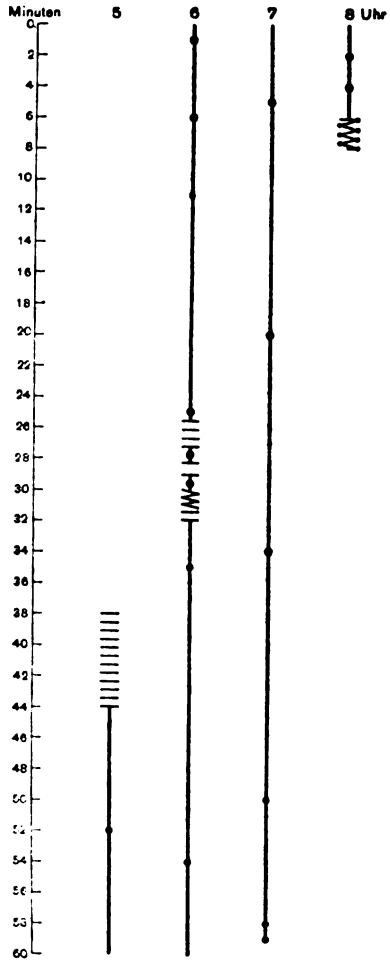


Fig. 1.
Haparta. 27. IX. 10.

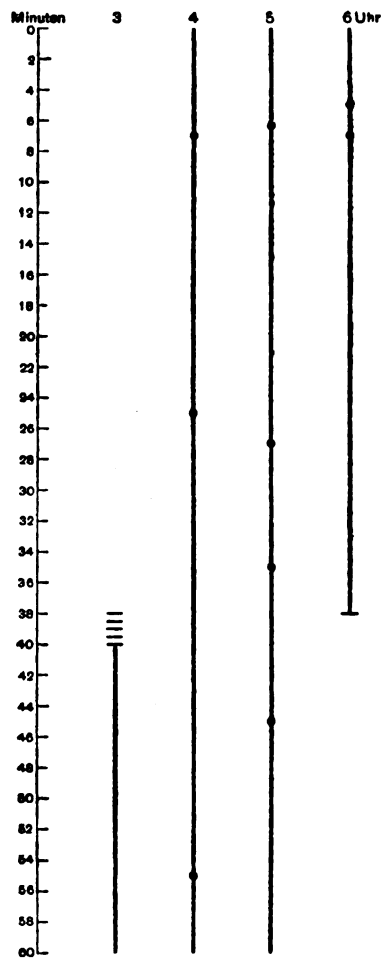


Fig. 2.
Haparta. 12. X. 10.

Zeichenerklärungen:

≡ = Wach, ruhig.
: = Schwache Bewegung.
⁘ = Starke Bewegung.
| = Schläft.
o = Saugt.
≋ = Schreit.

Betrachten wir zunächst die Resultate der Versuche, so sind, wenn wir dabei die Werte pro Stunde und Quadratmeter Oberfläche ins Auge fassen, immerhin noch erhebliche Diffe-

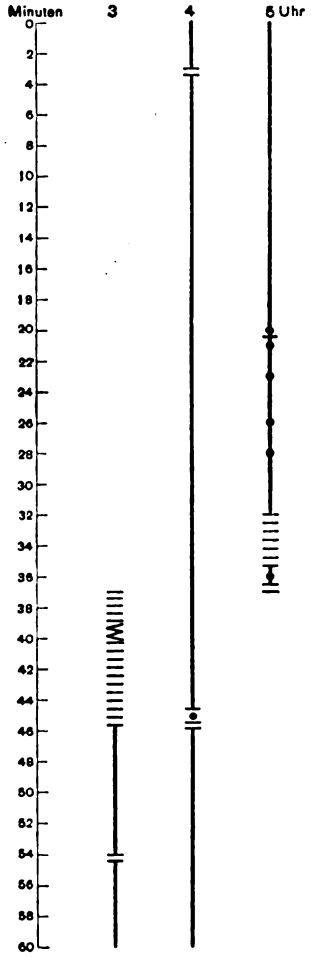


Fig. 3.
Haparta. 25. X. 10.

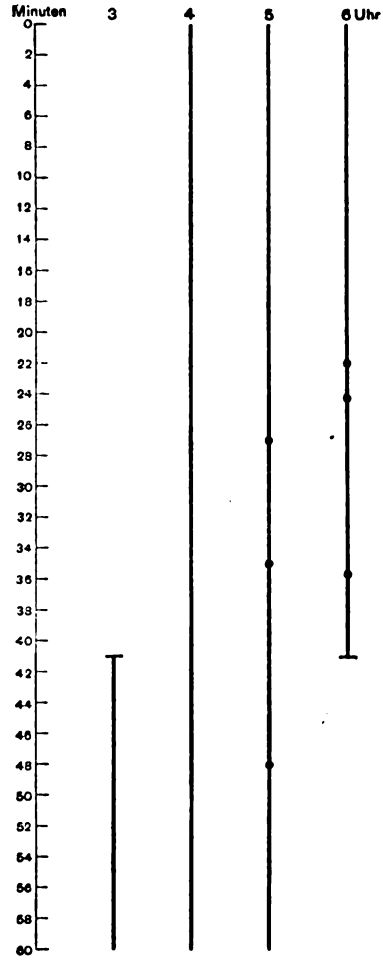


Fig. 4.
Haparta. 29. X. 10.

renzen besonders zwischen Versuch 3 und Versuch 5 bzw. 2 vorhanden. Beides sind aber Kälteversuche. Der Wert von Versuch 2 ist aber überhaupt der niedrigste, obschon er bei niederer Temperatur angestellt ist. Worin nun die eigentlichen Ursachen für die Verschiedenheit der Zahlen beruhen, beweisen

uns die Diagramme 1 bis 5, aus denen die Bewegungen zu ersehen sind, die das Kind gemacht hat. Es fällt sofort auf, daß Versuch 3 (Fig. 3) mit den hohen Werten uns recht erhebliche Bewegungen des Kindes verzeichnet. Dagegen sind Versuche 4 und 5 (Fig. 4 u. 5) geradezu ideale Versuche.

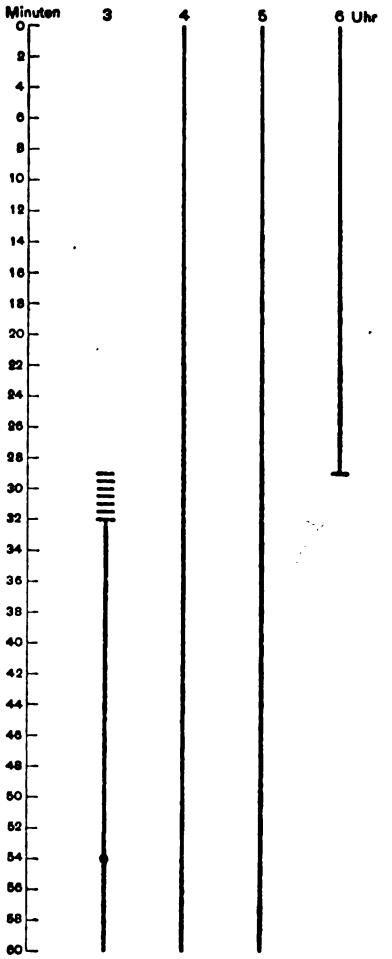


Fig. 5.
Haparta. 2. XI. 10.

Beide Male hat sich das Kind die ganze Zeit über so gut wie absolut ruhig verhalten. Dabei stimmen die Resultate aber auch vortrefflich überein, obschon eine Temperaturdifferenz von gerade 7° bestand. Versuch 1 (Fig. 1) ergibt etwas Bewegung des Kindes und damit auch höhere Werte, Versuch 2 (Fig. 2) ist wieder ein Idealversuch und stimmt daher auch mit Versuch 4 und 5 ganz überein.

Die Versuche an dem Kind Haparta zeigen somit, daß ein Unterschied in der Temperatur der umgebenden Luft von 7°, nämlich zwischen 16,3 und 23,3°, einen meßbaren Einfluß auf den respiratorischen Stoffwechsel nicht ausübt, daß vielmehr schon geringfügige Bewegungen in recht beträchtlichem Maße die CO_2-Produktion und den O-Verbrauch erhöhen, ganz gleichgültig, ob es sich um Versuche in wärmerer oder kälterer Umgebung handelt.

II. Kind Lethen, Elisabeth, 1910/1682, geb. 22. März 1910. Aufnahme am 28. Mai 1910. Jämmerliches Kind mit 3000 g

aufgenommen. Ernährungsstörung. Langsame Reparation. Bei Beginn der Versuche noch sehr mager, aber wieder frisch aussehend, bekommt Halbmilch mit Pegnin und noch geringe Mengen (400 g Milch + 400 g Wasser). Auch dieses Kind wurde 5mal in den Versuch genommen, und zwar 2mal bei erhöhter und 3mal bei erniedrigter Temperatur. (Siehe Protokolle 6 bis 10.)

Die Ergebnisse lehrt Tabelle 2.

Tabelle II.

Lethen.

Nr. d. Vers.	Tag des Versuchs	Art des Versuchs	Alter des Kindes Tage	Gewicht des Kindes g	Oberfläche des Kindes qm	Versuchsdauer Std.	Temperat. °C	Produzierte CO_2 pro kg u. Stunde l	g	Konsumierter O_2 pro kg und Stunde l	g	Produzierte CO_2 pro qm u. Stunde l	g	Konsumierter O_2 pro qm u. Stunde l	g
	1910														
6	20. VII.	Kälte-	120	3500	0,2759	2	17,1	0,627	1,228	0,746	1,066	7,961	15,60	9,461	13,52
7	25. VII.	Kälte-	125	3460	0,2737	3	16,9	0,499	0,9778	0,589	0,8430	6,313	12,37	7,446	10,64
8	29. VII.	Wärme-	129	3480	0,2748	3	23,4	0,525	1,029	0,604	0,8631	6,645	13,02	7,649	10,93
9	1. VIII.	Kälte-	132	3550	0,2785	3	16,9	0,485	0,9503	0,560	0,8002	6,186	12,12	7,145	10,21
10	4. VIII.	Wärme-	135	3450	0,2732	3	23,4	0,474	0,9288	0,541	0,7731	5,987	11,73	6,837	9,770

Auch dieses Kind zeigt erhebliche Schwankungen der Werte in den einzelnen Versuchen, so besonders zwischen Versuch 6 und Versuch 10. Ersterer (Fig. 6) ist als ein Ruheversuch überhaupt nicht zu verwerten. Dagegen sind Versuche 9 und 10 (Fig. 9 u. 10) ideale Versuche, der eine in der Kälte, der andere in der Wärme vorgenommen und mit sehr gut übereinstimmenden Resultaten. Zieht man weiter die Versuche 7 und 8 (Fig. 7 u. 8) noch in Betracht, so ergibt sich auch hier wieder, daß Temperaturunterschiede mäßigen Grades den respiratorischen Stoffwechsel nicht beeinflussen.

Wir können daher Temperaturdifferenzen geringen Grades bei der Bewertung der Ergebnisse, die wir bei der Ermittlung des respiratorischen Stoffwechsels an Säuglingen finden, unbedenklich außer acht lassen. Wir sehen aber weiter, daß der Mensch schon in sehr früher Jugend durch physikalische Wärmeregulierung imstande ist, die Einflüsse seiner Umgebung zu paralysieren. Nahrung und Bewegung, nicht aber die umgebende Temperatur beeinflussen den respiratorischen Stoffwechsel.

Daß bei abnorm niedrigen Temperaturen ebenso wie bei exzessiver Hitze die Dinge anders liegen, ist fraglos, doch entzieht sich diese Frage wegen der Gefährdung für die Kinder

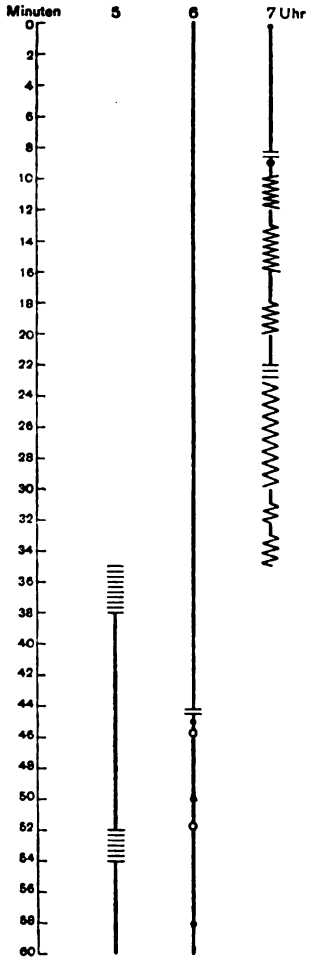


Fig. 6.
Lethen. 20. VII. 10.

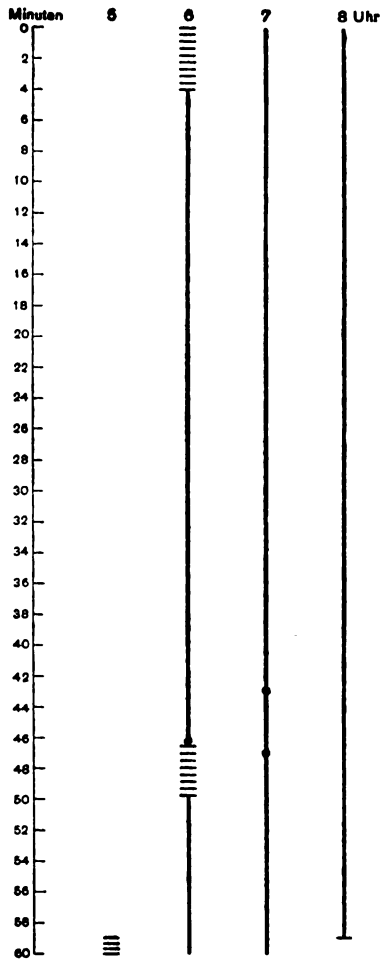


Fig. 7.
Lethen. 25. VII. 10.

der experimentellen Lösung. Die klinisch so leicht und einwandfrei zu beobachtende Tatsache, daß Hitze oder besser gesagt atmosphärische Einflüsse auf den Stoffwechsel des Säuglings direkt oder indirekt verhängnisvoll wirken, gibt aber gewisse Anhaltspunkte dafür, daß eben die physikalische Wärme-

regulierung beim Säugling immerhin nur innerhalb von gewissen Grenzen genügend funktioniert.

Das ausgezeichnete thermoregulatorische Vermögen des ge-

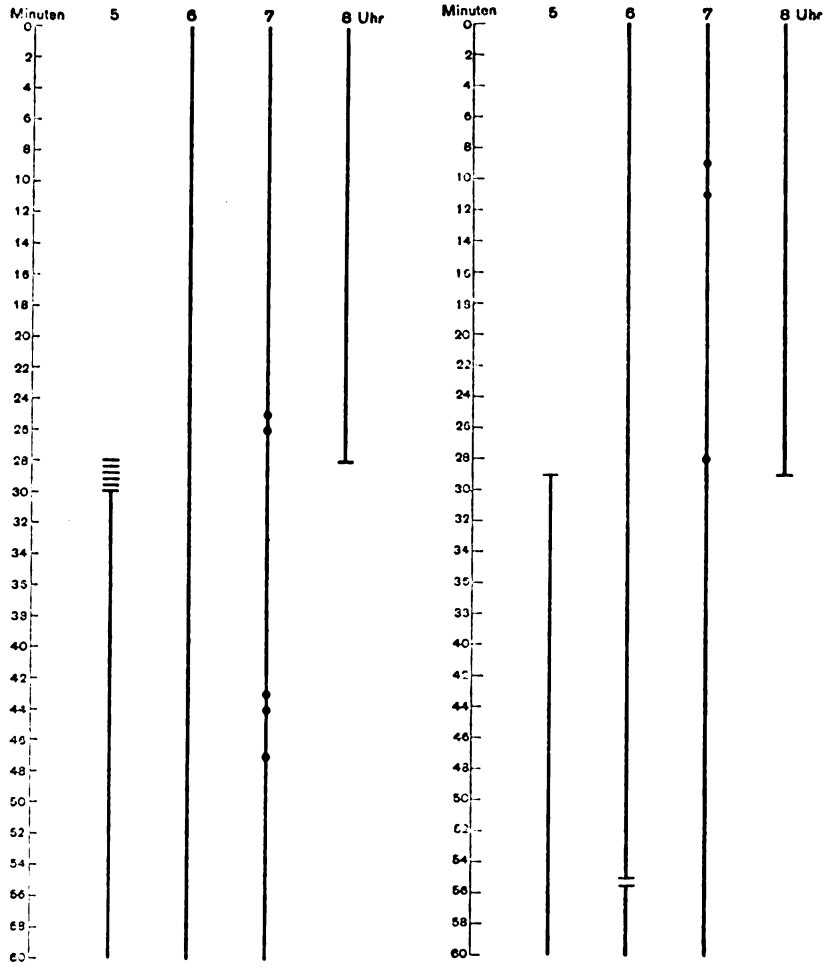


Fig. 9.

Lethen. 29. VII. 10. Lethen. I. VIII. 10.

sunden Säuglings läßt sich übrigens noch vermittels einer anderen Methode erweisen. Der eine von uns (Schloßmann) hat sich eingehend mit Temperaturmessungen bei Säuglingen beschäftigt und sich dabei eines registrierenden elektrischen Widerstandsthermometers bedient, das von Bruger angegeben und von

der Firma Hartmann & Braun A.-G in Frankfurt a. M. gebaut ist. Der Apparat zeichnet die Befunde graphisch auf, indem alle 30 Sekunden eine Notierung automatisch statthat. Die dabei aufgezeichneten Punkte stehen so dicht nebeneinander, daß sie als kontinuierliche Linie wirken. Der Aufnahmeapparat wird an der Haut des Kindes, bei uns am Rücken durch Leukoplaststreifen fixiert. Dabei kann man nun feststellen (Fig. 11 u. 12), daß die Temperatur des Säuglings, wenn er ruhig in seinem Bette liegt, sich so gut wie gar nicht verändert, ja, der Gedanke liegt nahe, ob nicht manche Tageskurven, die man als charakteristisch für das Auf und Ab in der Temperatur des Säuglings angenommen hat, sich als Kunstprodukt erweisen werden. Noch interessanter aber war die Tatsache, daß auch nach der Nahrungsaufnahme keine oder so gut wie keine Steigerung der Eigentemperatur des Kindes zu verzeichnen ist. Wenn man den respiratorischen Stoffwechsel nach der Nahrungsaufnahme verfolgt, so sieht man, wie in kurzer Zeit ein mächtiger Sauerstoffverbrauch und eine Kohlensäureproduktion eintritt: Kohlenhydrate werden beinahe explosiv verbrannt. Trotzdem ergibt sich keine Steigerung der Eigentemperatur. Man darf aus mancherlei Anzeichen wohl annehmen, daß die dabei so rapid frei werdende Energie in erster Linie als Arbeit in Er-

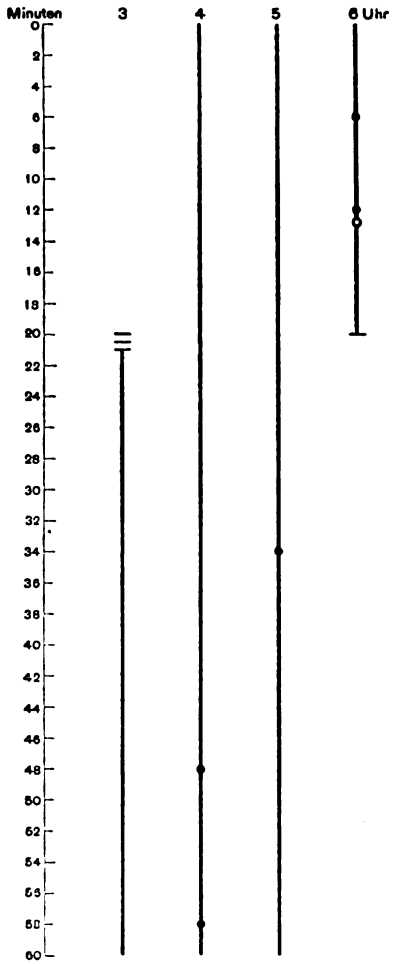


Fig. 10.
Lethen. 4. VIII. 10.

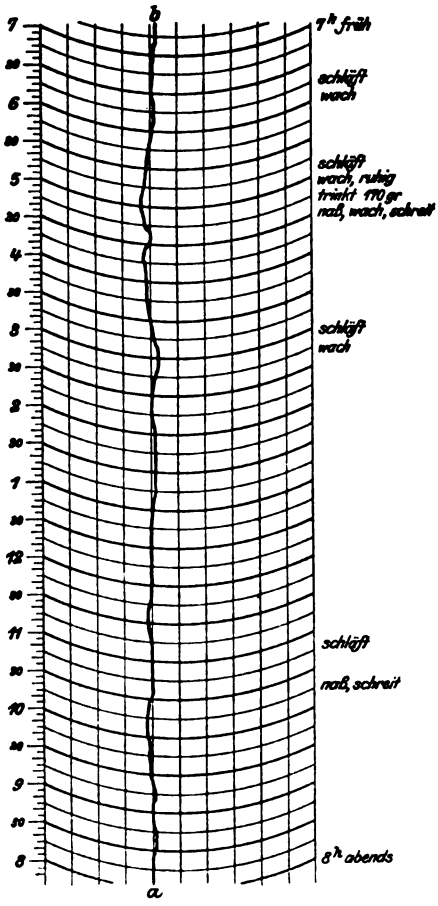


Fig. 11.

scheinung tritt, und zwar als Arbeit, die dazu dient, die Verdauung der übrigen aufgenommenen Nährstoffe in die Wege zu leiten. Daß aber eine Steigerung der Körpertemperatur dabei überhaupt nicht eintritt, dürfte auf Rechnung einer ausgezeichnet funktionierenden Wärmeregulation zu setzen sein.

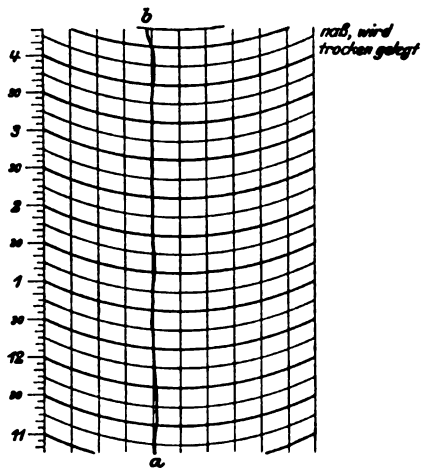


Fig. 12. Kind schläft von 10^h39 bis 4^h31, nachdem es 10^h20 bis 10^h34 160 g Frauenmilch getrunken.

Protokolle:

1. Versuch vom 27. September 1910.

Versuchsobjekt: Haparta, Else. Alter: 90 Tage.

Gewicht d. Kindes		Gewicht d. Bekleidung und des Bettzeuges		Dauer des Versuchs	Ernährung
vorher	nachher	vorher	nachher		
4270 g	4250 g	2225 g	2285 g	$2^1/_2$ Std.	Hunger

(4350 g = 0,3188 qm Oberfläche.)[1])

[1]) In dieser Arbeit ist das Gewicht bei Beginn des Hungerns eingesetzt und die Oberfläche nach diesem Gewicht bestimmt. Es dürfte diese Methode die korrektere sein.

	Temp.	Bar. korr.	Manometer	Thermobar.	Hygrom.
Anfangswerte: Kast.	19,9°	763,1	− 0,04	+ 0,02	62
Wanne	16,9°				
Endwerte:	17,3°	763,6	− 0,97	− 8,63	87

Anfangsvolumen: 199,360 l bei 19,9° und 752,31 mm Hg = 183,913 l.
Endvolumen: 199,360 l bei 19,9° und 757,97 mm Hg = 185,296 l.

Analysen der Anfangsluft:	der Endluft:	des Sauerstoffs:
CO_2 = 0,07%	0,23%	CO_2 = 0,09%
O_2 = 20,86 „	20,68 „	O_2 = 97,71 „
N_2 = 79,07 „	79,09 „	N_2 = 2,20 „
100,00%	100,00%	100,00%

Sauerstoffbilanz:

Vorher vorhanden . . 38,364 l.
Nachher „ . . 38,319 l.
0,045 l.

Anfangsgewicht des Gasometers = 4,121 kg bei 16,8° und 762,9 mm Hg.
Endgewicht „ „ = 10,669 kg bei 17,3° und 763,6 mm Hg.
Zugeführt . . . . . = 6,077 l bei 0° und 760 mm Hg.
Davon ab N_2 in O_2 = 0,133 l.
„ „ CO_2 „ O_2 = 0,005 l.
Dazu . . . . . 0,045 l.
Nettosauerstoffverbrauch: 5,983 l = 8,5496 g.
Sauerstoffverbrauch pro kg und Std. = 0,560 l (0,550 l)[1].

Kohlensäurebilanz:

Vorher vorhanden 0,129 l. Aus Lauge . . . . . = 4,795 l CO_2.
Nachher „ 0,426 l. Ges.-Kohlensäureprod. = 5,092 l.
0,297 l. = 9,9775 g.

Kohlensäure pro kg und Std. = 0,477 l (0,468 l)[1]; Resp. Quotient = 0,85.

Stickstoffbilanz:

Vorher vorhanden 145,420 l.
Nachher „ 146,552 l.
1,132 l, N_2 aus O_2 (2,20%) = 0,133 l.
Differenz = + 1,000 l.

Bemerkungen: Das Kind produzierte pro Quadratmeter Oberfläche und Stunde 12,52 g CO_2 und konsumierte 10,73 g O.

2. Versuch vom 12. Oktober 1910.
Versuchsobjekt: Haparta, Else. Alter 105 Tage.

Gewicht d. Kindes vorher	Gewicht d. Kindes nachher	Gewicht der Bekleidung und des Bettzeuges vorher	Gewicht der Bekleidung und des Bettzeuges nachher	Dauer des Versuchs	Ernährung
4380 g	4350 g	2290 g	2330 g	3 Std.	Hunger

(4390 g = 0,3208 qm Oberfläche.)

[1]) Auf das Gewicht von 4350 g berechnet.

	Temp.	Bar. korr.	Manometer	Thermobar.	Hygrom.
Anfangswerte:	Kast. 23,0°	751,8	−0,01	−0,01	71
	Wanne 23,4°				
Endwerte:	23,3°	752,8	+5,07	+0,10	79

Anfangsvolumen: 199,200 l bei 23,0° und 737,00 mm Hg = 178,137 l.
Endvolumen: 199,200 l bei 23,0° und 739,86 mm Hg = 178,829 l.

Analysen

der Anfangsluft:	der Endluft:	des Sauerstoffs:
CO_2 = 0,07%	0,21%	CO_2 = 0,10%
O_2 = 20,86 „	20,39 „	O_2 = 97,11 „
N_2 = 79,07 „	79,40 „	N_2 = 2,79 „
100,00%	100,00%	100,00%

Sauerstoffbilanz:

Vorher vorhanden . . 37,158 l.
Nachher „ . . 36,463 l.
0,695 l.

Anfangsgewicht des Gasometers = 4,290 kg bei 23,6° und 751,9 mm Hg.
Endgewicht „ „ = 11,516 kg bei 23,4° und 752,8 mm Hg.

Zugeführt . . . . . = 6,413 l bei 0° und 760 mm Hg.
Davon ab N_2 in O_2 = 0,179 l.
„ „ CO_2 „ O_2 = 0,006 l.
Dazu . . . . . 0,695 l.

Nettosauerstoffverbrauch: 6,923 l = 9,8928 g.
Sauerstoffverbrauch pro kg und Std. = 0,528 l (0,525 l).

Kohlensäurebilanz:

Vorher vorhanden 0,125 l. Aus Lauge . . . . . = 5,598 l CO_2.
Nachher „ 0,376 l. Ges.-Kohlensäureprod. = 5,849 l.
0,251 l. = 11,461 g.

Kohlensäure pro kg und Std. = 0,446 l (0,444 l); Resp. Quotient = 0,84.

Stickstoffbilanz:

Vorher vorhanden 140,851 l.
Nacher „ 141,990 l.
1,139 l.
N_2 aus O_2 (2,79%) = 0,179 l.
Differenz = + 0,96 l.

Bemerkungen: Das Kind produzierte pro Stunde und Quadratmeter Oberfläche 11,91 g und konsumierte 10,28 g O.

3. Versuch vom 25. Oktober 1910.
Versuchsobjekt: Haparta, Else. Alter: 118 Tage.

Gewicht d. Kindes		Gewicht der Bekleidung und des Bettzeuges		Dauer des Versuchs	Ernährung
vorher	nachher	vorher	nachher		
4420 g	4375 g	2615 g	2730 g	2 Std.	Hunger

(4550 g = 0,3286 qm Oberfläche.)

	Temp.	Bar. korr.	Manometer	Thermobar.	Hygrom.
Anfangswerte:	Kast. 16,8°	761,1	− 0,05	− 0,06	65
	Wanne 16,5°				
Endwerte:	16,6°	760,7	+ 0,50	− 0,73	80

Anfangsvolumen: 198,805 l bei 16,8° und 751,88 mm Hg = 185,258 l.
Endvolumen: 198,805 l bei 16,8° und 751,13 mm Hg = 185,075 l.

Analysen der Anfangsluft:	der Endluft:	des Sauerstoffs:
CO_2 = 0,07 %	0,19 %	CO_2 = 0,10 %
O_2 = 20,86 „	20,17 „	O_2 = 96,74 „
N_2 = 79,07 „	79,64 „	N_2 = 3,16 „
100,00 %	100,00 %	100,00 %

Sauerstoffbilanz:

Vorher vorhanden . . 38,645 l.
Nachher „ . . 37,330 l.
1,315 l.

Anfangsgewicht des Gasometers = 4,094 kg bei 16,5° und 761,1 mm Hg.
Endgewicht „ „ = 8,444 kg bei 16,6° und 760,8 mm Hg.

Zugeführt . . . . = 4,037 l bei 0° und 760 mm Hg.
Davon ab N_2 in O_2 = 0,128 l.
„ „ CO_2 „ O_2 = 0,004 l.
Dazu . . . . . 1,315 l.

Nettosauerstoffverbrauch: 5,221 l = 7,4606 g.
Sauerstoffverbrauch pro kg und Std. = 0,590 l (0,574 l).

Kohlensäurebilanz:

Vorher vorhanden 0,130 l. Aus Lauge . . . . . = 4,244 l CO_2.
Nachher „ 0,352 l. Ges.-Kohlensäureprod. = 4,466 l.
0,222 l. = 8,7508 g.

Kohlensäure pro kg und Std. = 0,505 l (0,490 l); Resp. Quotient = 0,85.

Stickstoffbilanz:

Vorher vorhanden 146,483 l.
Nachher „ 147,399 l.
0,916 l.
N_2 aus O_2 (3,16 %) = 0,128 l.
Differenz = + 0,788 l.

Bemerkungen: Das Kind produzierte pro Stunde und Quadratmeter Oberfläche 13,32 g CO_2 und konsumierte 11,35 g O.

4. Versuch vom 29. Oktober 1910.
Versuchsobjekt: Haparta, Else. Alter: 122 Tage.

Gewicht d. Kindes		Gewicht der Bekleidung und des Bettzeuges		Dauer des Versuchs	Ernährung
vorher	nachher	vorher	nachher		
4440 g	4435 g	2475 g	2460 g	3 Std.	Hunger

(4450 g = 0,3237 qm Oberfläche.)

	Temp.	Bar. korr.	Manometer	Thermobar.	Hygrom.
Anfangswerte:	Kast. 22,5°	754,2	−0,02	−0,01	64
	Wanne 23,3°				
Endwerte:	23,3°	754,2	+9,35	+3,09	76

Anfangsvolumen: 198,970 l bei 22,5° und 741,23 mm Hg = 179,246 l.
Endvolumen: 198,970 l bei 22,5° und 744,27 mm Hg = 179,987 l.

Analysen

der Anfangsluft:	der Endluft:	des Sauerstoffs:
CO_2 = 0,07%	0,24%	CO_2 = 0,08%
O_2 = 20,86 „	20,20 „	O_2 = 96,73 „
N_2 = 79.07 „	79,56 „	N_2 = 3,19 „
100,00%	100,00%	100,00%

Sauerstoffbilanz:

Vorher vorhanden . . 37,390 l.
Nachher „ . . 36,358 l.
1,032 l.

Anfangsgewicht des Gasometers = 4,296 kg bei 23,4° und 754,4 mm Hg.
Endgewicht „ „ = 11,270 kg bei 23,3° und 754,2 mm Hg.

Zugeführt . . . . = 6,209 l bei 0° und 760 mm Hg.
Davon ab N_2 in O_2 = 0,198 l.
„ „ CO_2 „ O_2 = 0,005 l.
Dazu . . . . . 1,032 l.

Nettosauerstoffverbrauch: 7,038 l = 10,0572 g.
Sauerstoffverbrauch pro kg und Std. = 0,528 l (0,527 l).

Kohlensäurebilanz:

Vorher vorhanden 0,126 l. Aus Lauge . . . . . = 5,610 l CO_2.
Nachher „ 0,432 l. Ges.-Kohlensäureprod. = 5,916 l.
0,306 l. = 11,5921 g.

Kohlensäure pro kg und Std. = 0,444 l (0,443 l); Resp. Quotient = 0,84.

Stickstoffbilanz:

Vorher vorhanden 141,729 l.
Nachher „ 143,199 l.
1,470 l.
N_2 aus O_2 (3,19%) = 0,198 l.
Differenz = + 1,272 l.

Bemerkungen: Das Kind produzierte pro Stunde und Quadratmeter Oberfläche 11,94 g CO_2 und konsumierte 10,36 g O.

5. Versuch vom 2. November 1910.
Versuchsobjekt: Haparta, Else. Alter: 126 Tage.

Gewicht d. Kindes		Gewicht der Bekleidung und des Bettzeuges		Dauer des Versuchs	Ernährung
vorher	nachher	vorher	nachher		
4400 g	4390 g	2530 g	2525 g	3 Std.	Hunger

(4450 g = 3237 qm Oberfläche.)

	Temp.	Bar. korr.	Manometer	Thermobar.	Hygrom.
Anfangswerte:	Kast. 16,3°	738,14	−0,01	−0,03	56
	Wanne 16,3°				
Endwerte:	16,4°	739,34	+4,68	−0,76	70

Anfangsvolumen: 198,950 l bei 16,3° und 730,43 mm Hg = 180,413 l.
Endvolumen: 198,950 l bei 16,3° und 733,85 mm Hg = 181,258 l.

Analysen der Anfangsluft:	der Endluft:	des Sauerstoffs:
CO_2 = 0,07%	0,20%	CO_2 = 0,05%
O_2 = 20,86 „	20,50 „	O_2 = 96,58 „
N_2 = 79,07 „	79,30 „	N_2 = 3,37 „
100,0%	100,0%	100,00%

Sauerstoffbilanz:

Vorher vorhanden . . 37,634 l.
Nachher „ . . 37,157 l.
0,477 l.

Anfangsgewicht des Gasometers = 4,143 kg bei 16,35° und 737,7 mm Hg.
Endgewicht „ „ = 11,662 kg bei 16,4° und 739,3 mm Hg.

Zugeführt . . . . = 6,768 l bei 0° und 760 mm Hg.
Davon ab N_2 in O_2 = 0,228 l.
„ „ CO_2 „ O_2 = 0,003 l.
Dazu . . . . . 0,477 l.

Nettosauerstoffverbrauch: 7,014 l = 10,0230 g.
Sauerstoffverbrauch pro kg und Std. = 0,531 l (0,525 l).

Kohlensäurebilanz:

Vorher vorhanden 0,126 l. Aus Lauge . . . . . = 5,547 l CO_2.
Nachher „ 0,363 l. Ges.-Kohlensäureprod. = 5,784 l.
0,237 l. = 11,333 g.

Kohlensäure pro kg und Std. = 0,438 l (0,433 l); Resp. Quotient = 0,825.

Stickstoffbilanz:

Vorher vorhanden 142,653 l.
Nachher „ 143,736 l. N_2 aus O_2 (3,37%) = 0,228 l.
1,083 l.
Differenz = + 0,855 l.

Bemerkungen: Das Kind produzierte pro Stunde und Quadratmeter Oberfläche 11,67 g CO_2 und konsumierte 10,32 g O.

6. Versuch vom 20. Juli 1910.
Versuchsobjekt: Lethen, Elisabeth. Alter: 120 Tage.

Gewicht d. Kindes		Gewicht der Bekleidung und des Bettzeuges		Dauer des Versuchs	Ernährung
vorher	nachher	vorher	nachher		
3450 g	3375 g	2410 g	2465 g	2 Std.	Hunger

(3500 g = 0,2759 qm Oberfläche.)

	Temp.	Bar. korr.	Manometer	Thermobar.	Hygrom.
Anfangswerte:	Kast. 19,5°	756,0	+ 0,18	− 0,19	64
	Wanne 17,1°				
Endwerte:	17,3°	756,3	+ 2,02	− 5,95	96

Anfangsvolumen: 200,025 l bei 19,5° und 745,59 mm Hg = 183,125 l.
Endvolumen: 200,025 l bei 19,5° und 747,79 mm Hg = 183,666 l.

Analysen der Anfangsluft:	der Endluft:	des Sauerstoffs:
CO_2 = 0,07%	0,35%	CO_2 = 0,12%
O_2 = 20,86 „	20,42 „	O_2 = 96,84 „
N_2 = 79,07 „	79,23 „	N_2 = 3,04 „
100,00%	100,00%	100,00%

Sauerstoffbilanz:

Vorher vorhanden . . 38,200 l.
Nachher „ . . 37,505 l.
0,695 l.

Anfangsgewicht des Gasometers = 4,0545 kg bei 17,0° und 756,2 mm Hg.
Endgewicht „ „ = 9,1410 kg bei 17,4° und 756,3 mm Hg.

Zugeführt . . . . = 4,675 l bei 0° und 760 mm Hg.
Davon ab N_2 in O_2 = 0,142 l.
„ „ CO_2 „ O_2 = 0,006 l.
Dazu . . . . . 0,695 l.

Nettosauerstoffverbrauch: 5,222 l = 7,462 g.
Sauerstoffverbrauch pro kg und Std. = 0,756 l (0,746 l).

Kohlensäurebilanz:

Vorher vorhanden 0,128 l. Aus Lauge . . . . . = 3,877 l CO_2.
Nachher „ 0,645 l. Ges.-Kohlensäureprod. = 4,394 l.
0,517 l. = 8,610 g.

Kohlensäure pro kg und Std. = 0,637 l (0,627 l); Resp. Quotient = 0,841.

Stickstoffbilanz:

Vorher vorhanden 144,800 l.
Nachher „ 145,520 l.
0,720 l.
N_2 aus O_2 (3,04%) = 0,142 l.
Differenz = + 0,578 l.

Bemerkungen: Ist kein absoluter Ruheversuch. Das Kind produzierte pro Stunde und Quadratmeter 15,60 g CO_2 und konsumierte 13,52 g O.

7. Versuch vom 25. Juli 1910.

Versuchsobjekt: Lethen, Elise. Alter: 125 Tage.

Gewicht d. Kindes		Gewicht der Bekleidung und des Bettzeuges		Dauer des Versuchs	Ernährung
vorher	nachher	vorher	nachher		
3330 g	3300 g	2490 g	2500 g	3 Std.	Hunger

(3460 g = 0,2737 qm Oberfläche.)

	Temp.	Bar. korr.	Manometer	Thermobar.	Hygrom.
Anfangswerte: Kast.	17,6°	749,05	+ 0,17	− 0,26	85
Wanne	16,8°				
Endwerte:	17,1°	749,35	+ 3,36	− 1,34	87

Anfangsvolumen: 200,065 l bei 17,6° und 736,78 mm Hg = 182,225 l.
Endvolumen: 200,065 l bei 17,6° und 741,05 mm Hg = 183,283 l.

Analysen der Anfangsluft:	der Endluft:	des Sauerstoffs:
CO_2 = 0,07%	0,19%	CO_2 = 0,18%
O_2 = 20,86 „	20,76 „	O_2 = 97,00 „
N_2 = 79,07 „	79,05 „	N_2 = 2,82 „
100,00%	100,00%	100,00%

Sauerstoffbilanz:

Vorher vorhanden . . 38,012 l.
Nachher „ . . 38,050 l.
0,038 l.

Anfangsgewicht des Gasometers = 4,120 kg bei 16,8° und 748,95 mm Hg.
Endgewicht „ „ = 11,081 kg bei 17,2° und 749,35 mm Hg.

Zugeführt . . . . = 6,342 l bei 0° und 760 mm Hg.
Davon ab N_2 in O_2 = 0,179 l.
„ „ CO_2 „ O_2 = 0,011 l.
Dazu . . . . . 0,038 l.

Nettosauerstoffverbrauch: 6,113 l = 8,735 g.
Sauerstoffverbrauch pro kg und Std. = 0,612 l (0,589 l).

Kohlensäurebilanz:

Vorher vorhanden 0,128 l. Aus Lauge . . . . . = 4,967 l CO_2.
Nachher „ 0,348 l. Ges.-Kohlensäureprod. = 5,187 l.
0,220 l. = 10,164 g.

Kohlensäure pro kg und Std. = 0,519 l (0,499 l); Resp. Quotient = 0,84

Stickstoffbilanz:

Vorher vorhanden 144,086 l.
Nachher „ 144,883 l.
0,797 l.
N_2 aus O_2 (2,82%) = 0,179 l.
Differenz = + 0,618 l.

Bemerkungen: Das Kind produzierte pro Quadratmeter Oberfläche und Stunde 12,37 g CO_2 und konsumierte 10,64 g O.

8. Versuch vom 29. Juli 1910.
Versuchsobjekt: Lethen, Elise. Alter: 129 Tage.

Gewicht d. Kindes vorher	Gewicht d. Kindes nachher	Gewicht der Bekleidung und des Bettzeuges vorher	Gewicht der Bekleidung und des Bettzeuges nachher	Dauer des Versuchs	Ernährung
3425 g	3410 g	2460 g	2530 g	3 Std.	Hunger

(3480 g = 0,2748 qm Oberfläche.)

	Temp.	Bar. korr.	Manometer	Thermobar.	Hygrom.
Anfangswerte:	Kast. 23,3°	753,7	+0,15	−0,24	74
	Wanne 23,4°				
Endwerte:	23,3°	755,0	+5,43	−0,69	90

Anfangsvolumen: 199,960 l bei 23,3° und 738,34 mm Hg = 178,959 l.
Endvolumen: 199,960 l bei 23,3° und 740,66 mm Hg = 179,520 l.

Analysen

der Anfangsluft:	der Endluft:	des Sauerstoffs:
CO_2 = 0,07%	0,18%	CO_2 = 0,04%
O_2 = 20,86 „	20,32 „	O_2 = 97,76 „
N_2 = 79,07 „	79,50 „	N_2 = 2,20 „
100,00%	100,00%	100,00%

Sauerstoffbilanz:

Vorher vorhanden . . 37,330 l.
Nachher „ . . 36,478 l.
0,852 l.

Anfangsgewicht des Gasometers = 4,127 kg bei 23,4° und 753,6 mm Hg.
Endgewicht „ „ = 10,395 kg bei 23,3° und 754,9 mm Hg.

Zugeführt . . . . = 5,581 l bei 0° und 760 mm Hg.
Davon ab N_2 in O_2 = 0,123 l.
„ „ CO_2 „ O_2 = 0,002 l.
Dazu . . . . . 0,852 l.

Nettosauerstoffverbrauch: 6,308 l = 9,014 g.
Sauerstoffverbrauch pro kg und Std. = 0,614 l (0,604 l).

Kohlensäurebilanz:

Vorher vorhanden 0,125 l. Aus Lauge . . . . . = 5,281 l CO_2.
Nachher „ 0,323 l. Ges.-Kohlensäureprod. = 5,479 l.
0,198 l. = 10,736 g.

Kohlensäure pro kg und Std. = 0,533 l (0,525 l); Resp. Quotient = 0,86.

Stickstoffbilanz:

Vorher vorhanden 141,500 l.
Nachher „ 142,719 l.
1,219 l.
N_2 aus O_2 (2,20%) = 0,123 l.
Differenz = + 1,096 l.

Bemerkungen: Das Kind produzierte pro Stunde und Quadratmeter Oberfläche 13,02 g CO_2 und konsumierte 10,93 g O.

9. Versuch vom 1. August 1910.
Versuchsobjekt: Lethen, Elise. Alter: 132 Tage.

Gewicht d. Kindes		Gewicht der Bekleidung und des Bettzeuges		Dauer des Versuchs	Ernährung
vorher	nachher	vorher	nachher		
3440 g	3395 g	2450 g	2480 g	3 Std.	Hunger

(3550 g = 0,2785 qm Oberfläche.)

	Temp.	Bar. korr.	Manometer	Thermobar.	Hygrom.
Anfangswerte:	Kast. 20,8°	755,96	+ 0,15	− 0,20	71
	Wanne 16,9°				
Endwerte:	17,0°	756,06	− 4,17	− 12,56	86

Anfangsvolumen: 200,000 l bei 20,8° und 743,32 mm Hg = 181,737 l.
Endvolumen: 200,000 l bei 20,8° und 751,97 mm Hg = 183,848 l.

Analysen der Anfangsluft:	der Endluft:	des Sauerstoffs:
CO_2 = 0,07%	0,15%	CO_2 = 0,08%
O_2 = 20,86 „	20,89 „	O_2 = 97,17 „
N_2 = 79,07 „	78,96 „	N_2 = 2,75 „
100,00%	100,00%	100,00%

Sauerstoffbilanz:

Vorher vorhanden . . 37,910 l.
Nachher „ . . 38,406 l.
0,496 l.

Anfangsgewicht des Gasometers = 4,015 kg bei 16,7° und 756,06 mm Hg.
Endgewicht „ „ = 11,242 kg bei 17,0° und 756,06 mm Hg.

Zugeführt . . . . = 6,652 l bei 0° und 760 mm Hg.
Davon ab N_2 in O_2 = 0,183 l.
„ „ CO_2 „ O_2 = 0,005 l.
Dazu . . . . . 0,496 l.

Nettosauerstoffverbrauch: 5,968 l = 8,528 g.
Sauerstoffverbrauch pro kg und Std. = 0,578 l (0,560 l).

Kohlensäurebilanz:

Vorher vorhanden 0,127 l. Aus Lauge . . . . . = 5,018 l CO_2.
Nachher „ 0,276 l. Ges.-Kohlensäureprod. = 5,167 l.
0,149 l. = 10,124 g.

Kohlensäure pro kg und Std. = 0,501 l (0,485 l); Resp. Quotient = 0,86.

Stickstoffbilanz:

Vorher vorhanden 143,697 l.
Nachher „ 145,166 l.
1,469 l.
N_2 aus O_2 (2,75%) = 0,183 l.
Differenz = + 1,286 l.

Bemerkungen: Das Kind produzierte pro Stunde und Quadratmeter Oberfläche 12,12 g CO_2 und konsumierte 10,21 g O.

10. Versuch vom 4. August 1910.
Versuchsobjekt: Lethen, Elise. Alter: 135 Tage.

Gewicht d. Kindes vorher	Gewicht d. Kindes nachher	Gewicht der Bekleidung und des Bettzeuges vorher	Gewicht der Bekleidung und des Bettzeuges nachher	Dauer des Versuchs	Ernährung
3475 g	3440 g	2465 g	2495 g	3 Std.	Hunger

(3450 g = 0,2732 qm Oberfläche.)

	Temp.	Bar. korr.	Manometer	Thermobar.	Hygrom.
Anfangswerte:	Kast. 23,3°	750,4	+0,15	−0,28	75
	Wanne 23,4°				
Endwerte:	23,5°	749,8	+4,56	+1,29	82

Anfangsvolumen: 199,935 l bei 23,3° und 734,86 mm Hg = 178,096 l.
Endvolumen: 199,860 l bei 23,3° und 736,04 mm Hg = 178,312 l.

Analysen der Anfangsluft:	der Endluft:	des Sauerstoffs:
CO_2 = 0,07%	0,17%	CO_2 = 0,05%
O_2 = 20,86 „	20,19 „	O_2 = 97,10 „
N_2 = 79,07 „	79,64 „	N_2 = 2,85 „
100,00%	100,00%	100,00%

Sauerstoffbilanz:

Vorher vorhanden . . 37,150 l.
Nachher „ . . 36,002 l.
1,148 l.

Anfangsgewicht des Gasometers = 4,152 kg bei 23,5° und 750,6 mm Hg.
Endgewicht „ „ = 9,337 kg bei 23,5° und 749,8 mm Hg.

Zugeführt . . . . = 4,588 l bei 0° und 760 mm Hg.
Davon ab N_2 in O_2 = 0,131 l.
„ „ CO_2 „ O_2 = 0,002 l.
Dazu . . . . . 1,148 l.

Nettosauerstoffverbrauch: 5,603 l = 8,007 g.
Sauerstoffverbrauch pro kg und Std. = 0,538 l (0,541 l).

Kohlensäurebilanz:

Vorher vorhanden 0,125 l.
Nachher „ 0,303 l.
0,178 l.

Aus Lauge . . . . . = 4,730 l CO_2.
Ges.-Kohlensäureprod. = 4,908 l.
= 9,617 g.

Kohlensäure pro kg und Std. = 0,471 l (0,474 l); Resp. Quotient = 0,87.

Stickstoffbilanz:

Vorher vorhanden 140,820 l.
Nachher „ 142,006 l.
1,186 l.

N_2 aus O_2 (2,85%) = 0,131 l.

Differenz = + 1,055 l.

Bemerkungen: Das Kind produzierte pro Stunde und Quadratmeter Oberfläche 11,73 g CO_2 und konsumierte 9,770 g O.

Über den Einfluß des Schreiens auf den respiratorischen Stoffwechsel des Säuglings.

Von

A. Schloßmann und H. Murschhauser.

(Aus dem Laboratorium der Kinderklinik in Düsseldorf.)

(Eingegangen am 28. August 1911.)

Mit 2 Figuren im Text.

Schon in einer früheren Mitteilung (diese Zeitschr. 26) haben wir eingehend auf die Erhöhung hingewiesen, die der Grundumsatz des Säuglings durch Unruhe erfährt. Wir haben nun neuerdings einen Versuch angestellt, der zwar als Ruheversuch, wie er gedacht war, mißlang, der aber doch recht interessant ist, weil das Versuchskind eine volle Stunde hindurch fast ununterbrochen schrie und weinte. Dasselbe Kind war bereits früher in den Versuch genommen und hatte sich dabei zwar auch nicht ruhig, aber doch ungleich ruhiger als bei der Wiederholung benommen. Wir können daher den ersten Versuch zum Vergleich mit heranziehen.

Die auf der Zeichnung durch Punkte angedeuteten Bewegungen des Kindes während des Schreiens sind als solche aufzufassen, wie sie als Begleiterscheinung des Schreiens von Säuglingen regelmäßig ausgeführt werden und mit dem Schreien zugleich den Stoffumsatz beeinflussen; größere Anstrengungen und energische Bewegungen, wie wir sie bei älteren Kindern beim Schreien zu sehen pflegen, wurden hierbei nicht beobachtet.

Es handelt sich dabei um ein Kind Fritz Mugler, 1910/1654, das am 4. Mai 1910 geboren und am 20. Mai wegen Debilitis vitae und Ernährungsstörung aufgenommen wurde. Bei Frauen-

milchernährung ging die Reparation und dann die Zunahme sehr langsam vonstatten, so daß man erst am 11. Juli daran denken konnte, den Versuch mit dem Kinde vorzunehmen, der uns mancherlei Aufklärung versprochen hätte, wenn er sich nämlich als Ruheversuch hätte durchführen lassen. Am 16. Juli wurde der Versuch wiederholt, aber mit noch kläglicherem Ergebnis in bezug auf die Ruhe des Kindes (siehe die Protokolle 1 und 2).

Es fand sich bei den beiden Versuchen folgendes:

Versuchs-Nr.	Datum des Versuchs	Dauer des Versuchs Std.	Gewicht des Kindes g	Oberfläche des Kindes qm	CO_2-Ausscheidung pro kg u. Stunde	O-Verbrauch pro kg u. Stunde	CO_2-Ausscheidung pro qm u. Stunde	O-Verbrauch pro qm u. Stunde	Respirat. Quotient
1	11. VII.	$2\frac{1}{2}$	2680	0,2307	0,642 l = 1,258 g	0,762 l = 1,0888 g	7,113 l = 13,94 g	8,442 l = 12,06 g	0,84
2	16. VII.	1	2700	0,2318	0,867 l = 1,6988 g	0,963 l = 1,376 g	9,862 l = 19,32 g	10,949 l = 15,64 g	0,900

Blicken wir auf die beiden Diagramme, die das Verhalten des Kindes während der Versuche wiedergeben, so sehen wir, daß das Kind im zweiten Versuch (Fig. 2) die ganze Stunde hindurch geweint, im ersten (Fig. 1) dagegen, von 150 Minuten Versuchsdauer, 112 Minuten ruhig und 38 Minuten unruhig war. Wieviel das Kind Mugler beim Schreien CO_2 produziert und O konsumiert, ist aus Versuch 2 bekannt, wir können also annehmen, daß in den 38 Minuten des ersten Versuchs die Verhältnisse die gleichen waren wie im ganzen zweiten Versuch. In 60 Minuten produzierte da das Kind 19,32 g CO_2 pro 1 qm Oberfläche, in 1 Minute 0,322 g, in 38 Minuten 12,24 g CO_2. Im ersten, 150 Minuten dauernden Versuch war die CO_2-Produktion 34,85 g CO_2 pro 1 qm Kind. Rechnet man die unruhigen 38 Minuten mit 12,24 g CO_2 ab, so bleiben für die ruhigen 112 Minuten 22,61 g CO_2 pro 1 qm, d. i. pro Minute 0,202 g und pro Stunde 12,12 g CO_2.

In gleicher Weise berechnen wir den O-Verbrauch: In 60 Minuten des Schreiens betrug er 15,64 g, in 1 Minute 0,261 g, in 38 Minuten 9,918 g pro 1 qm Oberfläche. In 150 Minuten des ersten Versuchs sind 30,15 g O pro 1 qm konsumiert, davon in den 38 Minuten des Schreiens 9,918 g, es bleiben für

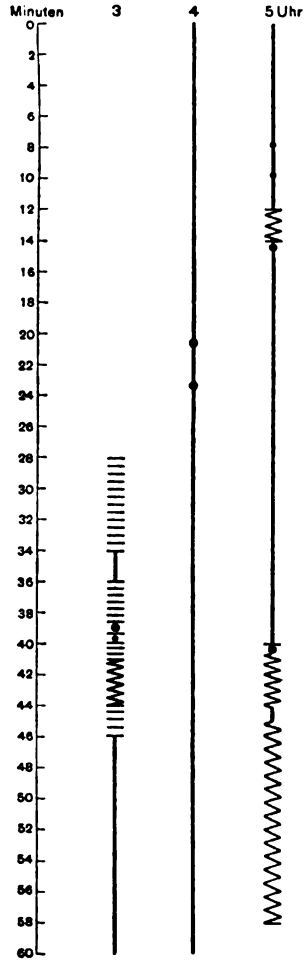


Fig. 1.
Mugler. 11. VII. 10.

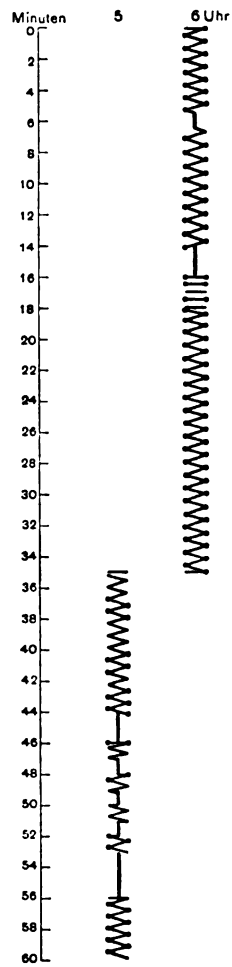


Fig. 2.
Mugler. 16. VII. 10.

= Wach, ruhig.
= Schwache Bewegung.
= Starke Bewegung.
= Schläft.
= Saugt.
= Schreit.

die 112 Minuten der Ruhe somit 20,232 g O, d. h. pro Minute 0,181 g und pro Stunde und 1 qm Oberfläche 10,86 g O.

Das Kind Mugler hatte somit in Ruhe einen O-Verbrauch von 10,86 g und eine Kohlensäureproduktion von 12,12 g, Werte, die geradezu ideal übereinstimmen mit den früher für den Grundumsatz ermittelten (12 g CO_2 und 11 g O; siehe diese Zeitschr. 26, 22).

Beim Schreien erhöhen sich diese Zahlen auf 19,32 g CO_2 und 15,64 g O, d. h. es steigt die CO_2-Produktion um 59,40%, der O-Konsum um 44,0%.

Wenn das Kind in der Ruhe pro 1 qm Oberfläche 10,86 g O = 7,6 l O konsumiert hat, so hat es bei 0,2307 qm effektiver Oberfläche 1,753 l pro Stunde wirklich konsumiert. In der Stunde des zweiten Versuchs war der Sauerstoffverbrauch 2,538 l, also 0,785 l höher. Da der respiratorische Quotient im zweiten Versuch höher ist als im ersten, so können wir annehmen, daß die Eiweißverbrennung nicht größer war als im ersten, daß also Kohlehydrat bzw. Glykogen und Fett den Brennstoff für die in erhöhtem Maße verausgabte Energie geliefert haben. Wenn 1 l O bei der Verbrennung und einem respiratorischen Quotienten von 0,90 einer Wärmeproduktion von 4,9665 Cal., einem Glykogenverbrauch von 0,7861 g und einem Fettverbrauch von 0,1753 g entspricht, so ergibt sich, da ein Mehrverbrauch von 0,84 l O in der Stunde vorliegt, eine Mehrproduktion von 3,899 Cal. und eine Mehrverbrennung von 0,62 g Glykogen und 0,138 g Fett. Der Mehrverbrauch von 3,899 Cal. würde, wenn man diesen gesamten Mehrverbrauch in Arbeit umrechnen wollte, einer Arbeitsleistung von $3{,}9 \times 425 = 1657$ m/kg entsprechen, die das Kind von höchstens $2^3/_4$ kg geleistet hätte. Wir benutzen diese Gelegenheit, um einen Irrtum richtigzustellen, der sich in einer früheren Arbeit findet und den N. Zuntz mit Recht moniert. Wir haben nämlich dort (diese Zeitschr. 26, 28) wie eben in der Rechnung oben, die ganze Energie, die in den Muskeln vermehrt umgesetzt wird, als mechanische Arbeit eingesetzt. In der Tat geht natürlich auch bei ökonomischster Arbeit des Körpers ein Teil der Energie in dem Sinne verloren, daß er nicht als wirkliche Arbeitsleistung zu berechnen ist. In der Tat dürfte die wirkliche Arbeitsleistung nur $^1/_3$ der theoretisch errechneten sein. Schreien und Bewegung des Kindes, über das wir früher be-

richteten, würde somit ca. 1900 m/kg betragen, das ist $^1/_{15}$ der Arbeitsleistung eines streng arbeitenden Erwachsenen. In unserem jetzigen Falle haben wir eine durch Schreien bedingte effektive Arbeitsleistung von 550 m/kg. Natürlich ändert diese Betrachtung nichts an der Tatsache, daß das Schreien des Kindes eine enorme Mehrbelastung in bezug auf seine Stoffumsetzung bedeutet; denn ob die ganze freigemachte Energie nun als Arbeit oder nur zum Teil als Arbeit, zum anderen Teil als Wärme in Erscheinung tritt, ändert doch nichts daran, daß mehr Nahrung oder im Hunger mehr Körperbestandteile zersetzt werden müssen. Schreien und Bewegen kostet dem Säugling unter allen Umständen, und zwar in sehr beträchtlichen Mengen, Körperenergie oder Nahrungsenergie.

Bei der Arbeitsleistung spielt natürlich nicht die Körperoberfläche, sondern in erster Linie das Gewicht des Individuums herein. Ein Kind von $2^3/_4$ kg wird dabei überhaupt auch, pro 1 kg berechnet, weniger Arbeit leisten können als ein solches von $5^1/_2$ kg, denn das Verhältnis vom Gesamtgewicht zum Gewicht der Muskulatur ist in letzterem Falle größer als in ersterem. Von der Menge der Muskulatur hängt aber die Arbeitsleistung ab.

Protokolle.

1. Versuch vom 11. Juli 1910.

Versuchsobjekt: Mugler, Fritz. Alter: 66 Tage.

Gewicht d. Kindes		Gewicht der Bekleidung und des Bettzeuges		Dauer des Versuchs	Ernährung
vorher	nachher	vorher	nachher		
2555 g	2530 g	2280 g	2300 g	$2^1/_2$ Std.	Hunger

(2680 g = 0,2307 qm Oberfläche[1]).

	Temp.	Bar. korr.	Manometer	Thermobar.	Hygrom.
Anfangswerte:	Kast. 18,0°	756,7	+0,18	−0,15	77
	Wanne 16,8°				
Endwerte:	17,1°	756,7	+3,29	−2,49	97

Anfangsvolumen: 201,045 l bei 18,0° und 745,25 mm Hg = 184,926 l.
Endvolumen: 201,045 l bei 18,0° und 748,42 mm Hg = 185,713 l.

[1]) Die in Klammern stehende Zahl gibt das Durchschnittsgewicht des Kindes vom vorhergehenden Tage an, die nicht eingeklammerte Zahl das Gewicht des Kindes nach der 18stündigen Hungerperiode unmittelbar vor Beginn des Respirationsversuches. Die Oberfläche des Kindes ist aus ersterem berechnet.

Analysen der Anfangsluft:	der Endluft:	des Sauerstoffs:
CO_2 = 0,07%	0,30%	CO_2 = 0,03%
O_2 = 20,86 „	20,68 „	O_2 = 97,67 „
N_2 = 79,07 „	79,02 „	N_2 = 2,30 „
100,00%	100,00%	100,00%

Sauerstoffbilanz:

Vorher vorhanden . . 38,576 l.
Nachher „ . . 38,406 l.
0,170 l.

Anfangsgewicht des Gasometers = 4,134 kg bei 16,8° und 756,7 mm Hg.
Endgewicht „ „ = 9,358 kg bei 17,0° und 756,7 mm Hg.

Zugeführt . . . . . = 4,811 l bei 0° und 760 mm Hg.
Davon ab N_2 in O_2 = 0,111 l.
„ „ CO_2 „ O_2 = 0,001 l.
Dazu . . . . . 0,170 l.
Nettosauerstoffverbrauch: 4,869 l = 6,958 g.
Sauerstoffverbrauch pro kg und Std. = 0,762 l (0,727 l)[1]).

Kohlensäurebilanz:

Vorher vorhanden 0,129 l. Aus Lauge . . . . . = 3,675 l CO_2.
Nachher „ 0,557 l. Ges.-Kohlensäureprod. = 4,103 l.
0,428 l. = 8,039 g.
Kohlensäure pro kg und Std. = 0,6421 (0,612)[1]); Resp. Quotient = 0,84.

Stickstoffbilanz:

Vorher vorhanden 146,221 l.
Nachher „ 146,750 l.
0,529 l.
N_2 aus O_2 (2,30%) = 0,111 l.
Differenz = + 0,418 l.

2. Versuch vom 16. Juli 1910.

Versuchsobjekt: Mugler, Fritz. Alter: 71 Tage.

Gewicht d. Kindes vorher	nachher	Gewicht der Bekleidung und des Bettzeuges vorher	nachher	Dauer des Versuchs	Ernährung
2635 g	2630 g	2190 g	2200 g	1 Std.	Hunger

(2700 g = 0,2318 qm Oberfläche.)

	Temp.	Bar. korr.	Manometer	Thermobar.	Hygrom.
Anfangswerte: Kast.	20,0°	753,5	+ 0,19	− 0,22	62
Wanne	16,8°				
Endwerte:	17,0°	753,5	+ 6,00	− 9,10	81

Anfangsvolumen: 201,05 l bei 20,0° und 743,12 mm Hg = 183,142 l.
Endvolumen: 201,05 l bei 20,0° und 754,51 mm Hg = 185,948 l.

[1]) Berechnet mit dem Mittelgewicht des Kindes vom vorhergehenden Tage.

Analysen der Anfangsluft:	der Endluft:	des Sauerstoffs:
CO_2 = 0,07%	0,22%	CO_2 = 0,13%
O_2 = 20,86 „	21,55 „	O_2 = 97,00 „
N_2 = 79,07 „	78,23 „	N_2 = 2,87 „
100,00%	100,00%	100,00%

Sauerstoffbilanz:

Vorher vorhanden . . 38,203 l.
Nachher „ . . 40,072 l.
1,869 l.

Anfangsgewicht des Gasometers = 4,349 kg bei 16,8° und 753,7 mm Hg.
Endgewicht „ „ = 9,305 kg bei 17,0° und 753,5 mm Hg.

Zugeführt . . . . . = 4,543 l bei 0° und 760 mm Hg.
Davon ab N_2 in O_2 = 0,130 l.
„ „ CO_2 „ O_2 = 0,006 l.
Dazu . . . . . 1,869 l.

Nettosauerstoffverbrauch: 2,538 l = 3,627 g.
Sauerstoffverbrauch pro kg und Std. = 0,963 l (0,940 l).

Kohlensäurebilanz:

Vorher vorhanden 0,128 l. Aus Lauge . . . . . = 2,005 l CO_2.
Nachher „ 0,409 l. Ges.-Kohlensäureprod. = 2,286 l.
0,281 l. = 4,479 g.

Kohlensäure pro kg und Std. = 0,867 l (0,846 l); Resp. Quotient = 0,900.

Stickstoffbilanz:

Vorher vorhanden 144,810 l.
Nachher „ 145,460 l.
0,650 l.
N_2 aus O_2 (2,87%) = 0,130 l.
Differenz = + 0,520 l.

Bemerkungen: Das Kind schrie während der ganzen Versuchsstunde lebhaft und fast ohne Unterbrechung.

Bemerkungen zur Zuckerbestimmung im Blute.

Von

Dengo Takahashi.

(Aus dem biochemischen Laboratorium des städtischen Krankenhauses am Urban, Berlin.)

(Eingegangen am 3. Oktober 1911.)

Die Methoden, die bei der Bestimmung des Zuckers im Blute angewendet werden, beruhen bekanntlich auf den Haupteigenschaften des hier hauptsächlich in Frage kommenden Traubenzuckers, der Reduktionsfähigkeit, der optischen Aktivität und der Vergärbarkeit. Selbstverständlich werden die Arten der Bestimmungsmethoden, vorzüglich die polarimetrische und die mittels Reduktion, nicht immer dieselben Werte liefern können, da auf optischem Wege die Summe der drehenden, durch Reduktion die Summe der reduzierenden Substanzen bestimmt wird; da im Blute außer dem Traubenzucker andere drehende und auch andere reduzierende Substanzen vorkommen, wird es von der Menge der letzteren abhängen, wie weit die Übereinstimmung der Ergebnisse der polarimetrischen Bestimmung mit der mittels Reduktion, auf Traubenzucker bezogen, gehen wird. Nur wenn die Menge der drehenden oder reduzierenden Körper, die nicht Traubenzucker sind, sehr gering ist — ein Verhalten, das nach den bisherigen Erfahrungen zutreffen dürfte —, wird man eine befriedigende Übereinstimmung zwischen den Reduktions- und den Polarisationswerten finden können. Daraus ergibt sich auch, daß die verschiedenen Methoden sich keineswegs ersetzen, sondern nur ergänzen können, indem die Unstimmigkeit der nach beiden Methoden gewonnenen Werte, kontrolliert durch das Verhalten nach der Vergärung, Hinweise liefern wird, wo der Grund dieser Unstimmigkeit — ob etwa in linksdrehenden, oder nicht vergärbaren Körpern usw. — liegen könnte[1]). Auch so liegen die

[1]) Namentlich Lépine hat auf die Notwendigkeit der Zuckerbestimmung gleichzeitig nach verschiedenen Methoden hingewiesen.

Verhältnisse aber meist sehr kompliziert, da selbst die Vergärbarkeit nicht auf bestimmte Gruppen der Kohlenhydrate beschränkt, sondern, wie neuere Untersuchungen von C. Neuberg zeigen, auch an einer Anzahl nicht den Kohlenhydraten angehörenden Körpern zu beobachten ist. Den Vorzug einer Bestimmungsmethode vor den anderen zu geben, liegt kein Grund vor. Zu behaupten, die Reduktionsmethoden im allgemeinen wären der polarimetrischen vorzuziehen, ist schon deshalb kaum angängig, da die bewährten Reduktionsmethoden unter sich, bei physiologischen Flüssigkeiten angewandt, nicht immer übereinstimmende Werte geben; so ist z. B. bekannt, daß die mittels der Bangschen Methode gewonnenen Werte meist höher als die mittels Bertrand gewonnenen liegen. Die Genauigkeit des auf polarimetrischem Wege gewonnenen Wertes steht, falls man mit einem guten Apparat mit dreiteiligem Gesichtsfeld arbeitet, der Genauigkeit der Reduktionswerte keineswegs nach. Der absolute Fehler der Ablesung beträgt $\pm 0{,}01°$; da man bei Anwendung geeigneter Enteiweißungsmethoden die zu untersuchende Flüssigkeit bequem so weit einengen kann, daß der abgelesene Winkel 0,25 bis 0,50° beträgt, so kann die Fehlergrenze der Methode zu 2 bis 4% angenommen werden. Hierzu kommt noch, daß die absolute Menge der zur Untersuchung gelangenden Flüssigkeit keine Rolle spielt, wenn man nur über so viel verfügt, daß eine Polarisationsröhre damit gefüllt werden kann (5 bis 6 ccm), während bei den Reduktionsmethoden, wo absolute Mengen bestimmt werden, dies nicht der Fall ist. Ein weiterer Vorteil ist, daß nach der Polarisation an derselben Flüssigkeit die Reduktion oder Vergärung vorgenommen und die vergorene Flüssigkeit nach der Polarisation noch der Reduktion unterworfen werden kann. Eine Divergenz in der Auffassung über die Natur des rechtsdrehenden, reduzierenden Körpers in den Blutkörperchen entstand insofern, als Lyttkens und Sandgren den reduzierenden Körper, dessen Vorhandensein in den Blutkörperchen sie ebenfalls bestätigen konnten, als nicht gärungsfähig fanden[1]). Sie führen die Abweichung von den Angaben von Michaelis und Rona, die nach der Vergärung die Flüssigkeit optisch unwirksam (oder in manchen Fällen linksdrehend) fanden, auf die Methode der

[1]) Diese Zeitschr. 26, 382.

Zuckerbestimmung zurück: nur mit der Reduktionsmethode ließe sich der wahre Sachverhalt aufdecken. Da in einer früheren Arbeit Rona und ich in einigen Fällen außer der Polarisation auch die Reduktion der vergorenen Flüssigkeit ausgeführt haben[1]), und zwar mit übereinstimmendem Ergebnis, so kann diese Annahme zur Erklärung der erwähnten Unstimmigkeit nicht genügen. Eingehend haben Frank und Bretschneider[2]) die Frage geprüft. Diese Autoren haben sich bei ihren Untersuchungen ebenfalls einer Reduktionsmethode (Bertrand) bedient und konnten dabei die glatte Vergärbarkeit des Blutkörperchenzuckers konstatieren. Sie schließen daraus folgerichtig, daß im fraglichen Körper Traubenzucker vorliegen müsse.

In den nachfolgenden Versuchen habe ich in einer Reihe derselben Blutproben zuerst den Zuckergehalt polarimetrisch bestimmt, dann die einzelnen Proben vergoren und die vergorenen Flüssigkeiten wieder polarisiert und dann sowohl nach Bang wie nach Bertrand reduziert. Die Enteiweißung des Blutes (je 20 ccm) erfolgte nach der Eiweißmethode von Michaelis und Rona. In vollkommener Übereinstimmung mit Frank und Bretschneider, wie mit unseren früheren Befunden konnte ich nach der Vergärung keinen rechtsdrehenden oder reduzierenden Körper in der Flüssigkeit nachweisen oder nur quantitativ nicht bestimmbare Spuren.

1. Hundeblut. Zuckergehalt (auf Traubenzucker bezogen) polarimetrisch gefunden zu 0,089, 0,086, 0,088, 0,092%[3]). Nach der Vergärung: polarimetrisch 0, nach Bang 0, nach Bertrand 0%.

2. Hundeblut. Zuckergehalt polarimetrisch gefunden zu 0,076, 0,074, 0,077%. Nach der Vergärung: polarimetrisch 0,004 und 0,003%, nach Bang Spuren, nach Bertrand 0.

3. Hundeblut. Zuckergehalt polarimetrisch gefunden zu 0,119, 0,116, 0,119, 0,114%. Nach der Vergärung: polarimetrisch 0, nach Bang 0, nach Bertrand 0.

4. Hundeblut. Zuckergehalt polarimetrisch gefunden zu 0,148, 0,148, 0,145, 0,144%. Nach der Vergärung: polarimetrisch 0,002 und 0,004%, nach Bang Spuren, nach Bertrand 0.

[1]) Diese Zeitschr. 30, 99.

[2]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 71, 157.

[3]) Jede dieser Zahlen in den angeführten Versuchen bedeutet die Untersuchung je einer Probe des Blutes für sich und ist der Mittelwert aus 6 bis 8 Einzelablesungen.

5. Hundeblut. Zuckergehalt polarimetrisch gefunden zu 0,110, 0,114, 0,110%. Nach der Vergärung: polarimetrisch 0, nach Bang 0, nach Bertrand 0.

6. Hundeblut. Zuckergehalt polarimetrisch gefunden zu 0,089, 0,088, 0,086, 0,091%. Nach der Vergärung: polarimetrisch —0,055, —0,055, —0,056°, nach Bang Spuren, nach Bertrand 0.

Ferner habe ich in einer Anzahl Fällen vergleichende Blutzuckerbestimmungen gemacht nach der polarimetrischen Methode und den verschiedenen gangbaren Reduktionsmethoden, nach Bang, nach Bertrand und in mehreren Fällen auch nach Kumagawa-Suto. Die Enteiweißung erfolgte in allen Fällen nach der Eisenmethode. Die Ausschläge der verschiedenen Reduktionsmethoden waren stets scharf und eindeutig; aus rein technischen Gründen liegt, richtige Ausführung vorausgesetzt, zunächst kein gewichtiger Grund vor, eine der Methoden der anderen vorzuziehen.

1. Hundeblut. Zucker (auf Traubenzucker bezogen) gefunden: polarimetrisch 0,159, 0,158, 0,161, 0,159%, nach Bang 0,170%, nach Bertrand 0,157%.

2. Hundeblut. Zucker gefunden: polarimetrisch 0,148, 0,146%, nach Bang 0,178%, nach Bertrand 0,149%, nach Kumagawa-Suto 0,155%.

3. Hundeblut. Zucker gefunden: polarimetrisch 0,186, 0,184%, nach Bang 0,202%, nach Bertrand 0,186, 0,188%.

4. Hundeblut. Zucker gefunden: polarimetrisch 0,134, 0,135%, nach Bang 0,168%, nach Bertrand 0,128%, nach Kumagawa-Suto 0,130%.

5. Hundeblut. Zucker gefunden: polarimetrisch 0,122, 0,126%, nach Bang 0,150%, nach Bertrand 0,122%, nach Kumagawa-Suto 0,120, 0,124%.

6. Hundeblut. Zucker gefunden: polarimetrisch 0,160%, nach Bang 0,210%, nach Bertrand 0,164, 0,167%, nach Kumagawa-Suto 0,164, 0,167%.

Wie aus den mitgeteilten Zahlen ersichtlich ist, stimmen die nach Bertrand und Kumagawa-Suto gewonnenen Werte untereinander, wie auch mit den polarimetrischen Werten befriedigend überein, während die nach Bang gewonnenen stets beträchtlich höher liegen.

Über die Quellung und Entquellung ruhender und tätig gewesener Froschmuskeln in isotonischen Kochsalzlösungen.

Von

Carl Schwarz (Wien).

(Eingegangen am 4. Oktober 1911.)

Mit 8 Figuren im Text.

Es ist eine seit langem festgestellte Tatsache, daß die Wasseraufnahme von Muskeln aus hypoisotonischen und hyperisotonischen Lösungen nicht ganz den Gesetzen des osmotischen Druckes folgt. Ebenso ist auch bekannt, daß der Zusatz kleinster Säuremengen zu isotonischen Lösungen eine sehr bedeutende Wasseraufnahme der Muskeln hervorruft[1]), die nach den Berechnungen von Overton[2]) keinesfalls auf Rechnung osmotischer Druckkräfte gesetzt werden kann. Nachdem nun durch die Arbeiten von K. Spiro[3]), Wo. Ostwald[4]), M. H. Fischer[5]), P. v. Schröder[6]), W. Pauli und Handowsky[7]) die Bedeutung der Wasserstoffionen für das Wasserbindungsvermögen von Kolloiden dargelegt[8]) und durch die Untersuchungen von W. M. Fletcher und F. G. Hopkins[9]) auf die Größe und Bedeutung der postmortal sofort einsetzenden und allmählich zunehmenden Milchsäurebildung im ausgeschnittenen Froschmuskel hingewiesen war, so schien es ganz zweckmäßig, von diesen Gesichtspunkten aus die Wasseraufnahme von Muskeln

[1]) J. Loeb, Arch. f. d. ges. Physiol. 69, 1898.
[2]) E. Overton, ebenda 92, 1902.
[3]) K. Spiro, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 5, 1904.
[4]) W. Ostwald, Arch. f. d. ges. Physiol. 108, 1905.
[5]) M. H. Fischer, Das Ödem. Dresden 1910.
[6]) P. v. Schröder, Zeitschr. f. phys. Chem. 45, 1903.
[7]) W. Pauli und Handowsky, diese Zeitschr. 18, 1909
[8]) Vgl. E. Pribram, Kolloidchem. Beihefte 2, 1910.
[9]) W. M. Fletcher und F. G. Hopkins, Journ. of Physiol. 35, 1907.

aus isotonischen Lösungen zu betrachten und das Wasserbindungsvermögen ruhender Muskeln mit dem tätig gewesener zu vergleichen. Diese Gesichtspunkte gewonnen zu haben, war das Ergebnis der vorgenannten in den letzten Jahren erschienenen Arbeiten.

So kam es, daß vorliegende Untersuchungen, die bereits im Jahre 1904/5 ausgeführt wurden, damals unter dem Einfluß der Lehre vom osmotischen Druck keine Erklärungsmöglichkeit gaben, wie auch eine zu derselben Zeit über ein ähnliches Thema erschienene Untersuchung von Fletcher[1]) zugeben muß. Den unmittelbaren Anstoß zur Veröffentlichung gaben jetzt die schönen Untersuchungen von v. Fürth und Lenk[2]) über die Bedeutung von Quellungs- und Entquellungsvorgängen für den Eintritt und die Lösung der Totenstarre, die durch meine Untersuchungen eine weitere Bestätigung erfahren dürften.

Methodisch wurde in der Art vorgegangen, daß das Wasserbindungsvermögen eines ruhenden und eines tätig gewesenen Gastrocnemius derselben frisch gefangenen Rana esculenta miteinander verglichen wurde. Zu diesem Zweck wurde ein Froschschenkelpaar vorsichtig präpariert, der N. ischiadicus der einen Seite durch längere Zeit (10 bis 15 Min.) faradisch gereizt sodann die beiden M. gastrocnemii mit der größtmöglichsten Schonung ausgeschnitten, an den Sehnen mit kleinen Seidenschlingen versehen und in 100 bis 150 ccm der Kochsalzlösung gelegt, die in einem Wasserbad bei einer konstanten Temperatur erhalten wurden. Nach bestimmten Zeiträumen wurden die Muskeln der Lösung entnommen, vorsichtig mittels Filtrierpapier abgetrocknet und gewogen. Für Froschmuskeln isotonische Kochsalzlösungen wurden Lösungen von 0,7 bis 0,8% NaCl angenommen[3]).

Die ersten Versuchsreihen geben ein Bild über die Gewichtsveränderungen von ruhenden und tätig gewesenen Muskeln in isotonischen (0,7 bis 0,8% NaCl) Kochsalzlösungen. Die Betrachtung der entsprechenden Kurven ergibt nun, daß der ruhende Muskel nur sehr allmählich Wasser aufnimmt, wobei

[1]) M. Fletcher, Journ. of Physiol. 30, 1904.

[2]) v. Fürth und E. Lenk, diese Zeitschr. 33, 1911.

[3]) Nach Fletcher, l. c., ist eine 0,75%ige NaCl-Lösung am ehesten Froschmuskeln isotonisch.

die Kurven der in 0,7% NaCl eingelegten Muskeln mit Rücksicht auf die geringe Hypoisotonie der Lösung etwas steiler verlaufen, als in der etwas hyperisotonischen 0,8%igen Kochsalzlösung. Nach 3 bis 4 Tagen erreicht das Wasserbindungsvermögen eines ruhenden Muskels bei einer Temperatur von 15 bis 20° C sein Maximum, dem dann eine langsam fortschreitende Wasserabgabe folgt. Der tätig gewesene Muskel zeigt einen ähnlichen, jedoch zeitlich ganz verschiedenen Verlauf seiner Wasserbindungskurve. Nach sehr raschem Anstieg erreicht das Wasserbindungsvermögen bei Zimmertemperatur bereits nach 5 bis 18 Stunden sein Maximum, um dann gleichfalls einer sehr langsam einhergehenden Wasserabgabe Platz zu machen.

Die Ursache dieser Erscheinungen ist in dem mit zunehmender Säurekonzentration steigenden Quellungsvermögen der Muskelkolloide zu suchen. Durch die Untersuchungen von Fletcher und Hopkins[1]) ist uns die postmortale, ganz allmählich zunehmende Milchsäurebildung im ausgeschnittenen, ruhenden Muskel näher bekannt geworden. Die steigende saure Reaktion des ruhenden Muskels findet nun in dem gleichzeitig zunehmenden Quellungsvermögen der Muskelkolloide ihren Ausdruck. Hat nun die Säurekonzentration ein bestimmtes Maximum erreicht, so tritt Wasserabgabe, also Entquellung der Muskelkolloide ein, die nach v. Fürth und Lenk[2]) mit der Fällung des Muskeleiweißes Hand in Hand gehen dürfte. Die in den ersten Stunden ungemein rasch erfolgende Wasseraufnahme tätig gewesener Muskeln ist durch die bei der Tätigkeit entstandenen und nicht mehr weggeschafften sauren Stoffwechselprodukte, also durch die saure Reaktion der Muskelkolloide bereits bedingt, zu der noch die postmortale Milchsäurebildung hinzukommt. Das rasch erreichte Quellungsmaximum ist demnach nur der Ausdruck einer rasch erreichten, ganz bestimmten Säurekonzentration in den Muskelkolloiden, deren weitere Zunahme wieder Entquellung der Muskelkolloide zur Folge haben muß. Da die Säurekonzentration ausschlaggebend ist, ob noch Quellung oder schon Entquellung vor sich geht, erscheint es selbstverständlich, daß das Maximum des Wasserbindungsvermögens des ruhenden wie des tätig gewesenen

[1]) l. c.
[2]) l. c.

Muskels in isotonischer Kochsalzlösung von derselben Größenordnung (20 bis 30 Gewichtsprozente des Muskels) befunden wurde.

Die Prüfung der Erregbarkeit des ruhenden wie des tätig gewesenen Muskels in den verschiedensten Stadien der Wasseraufnahme aus isotonischen Lösungen hat nur eines mit Sicherheit ergeben, nämlich, daß mit Beginn der Entquellung niemals mehr irgendeine Erregbarkeit durch faradische Reizung konstatiert werden konnte. Der Verlust der Erregbarkeit tritt dabei sowohl beim ruhenden als auch beim tätig gewesenen Muskel in sehr verschiedenen Stadien der Wasseraufnahme ein und scheint von der Stärke der Quellung nicht allein abhängig zu sein.

Versuch 39 (Fig. 1).
0,7% NaCl bei 20° C.

Zeit	Ruhender Muskel		Tätig gewesener Muskel	
	Gewicht	Zunahme	Gewicht	Zunahme
Std.	mg	%	mg	%
	661	—	673	—
1½	672	1,3	752	11,7
5½	695	5,1	815	21,0
9½	718	8,6	826	22,7
12½	730	10,4	818	21,5
23½	765	15,7	805	20,0

Versuch 33 (Fig. 2).
0,7% NaCl bei 20° C.

Zeit	Ruhender Muskel		Tätig gewesener Muskel	
	Gewicht	Zunahme	Gewicht	Zunahme
Std.	mg	%	mg	%
	828	—	833	—
2¼	860	3,8	926	11,1
4¾	876	5,8	981	17,7
8	892	7,7	1023	22,8
11	900	8,6	1026	23,1
14	907	9,5	1005	20,6
24	921	11,2	987	18,4
34	970	17,1	992	19,0

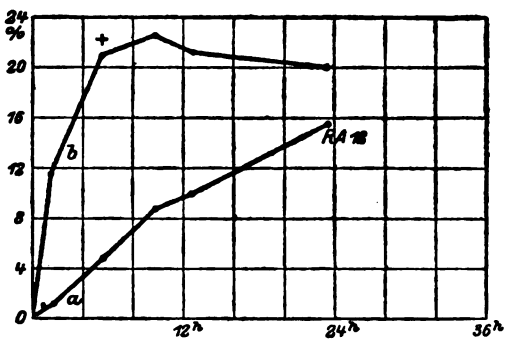


Fig. 1.

a = ruhender Muskel; b = tätig gewesener Muskel; die Ordinaten bezeichnen die prozentische Gewichtszunahme des Muskels; + bezeichnet den Zeitpunkt des Verlustes der Erregbarkeit.

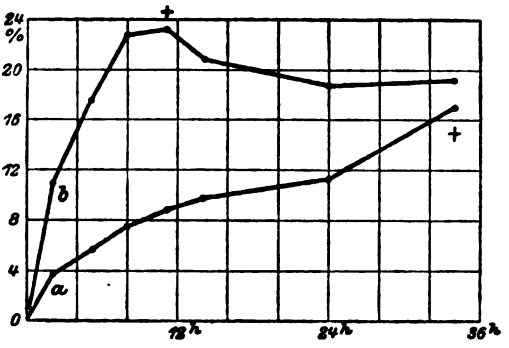


Fig. 2.

Versuch 101.
0,7% NaCl bei 15° C.

Zeit	Ruhender Muskel		Tätig gewesener Muskel	
	Gewicht	Zunahme	Gewicht	Zunahme
Std.	mg	%	mg	%
	1106	—	1079	—
1	1141	3,1	1161	7,6
4	1190	7,6	1265	17,2
8	1218	10,1	1345	24,6
10	1251	13,1	1314	21,7
22	1262	14,1	1261	16,8
37	1397	26,3	1254	16,2

Versuch 103.
0,7% NaCl bei 15° C.

Zeit	Ruhender Muskel		Tätig gewesener Muskel	
	Gewicht	Zunahme	Gewicht	Zunahme
Std.	mg	%	mg	%
	1181	—	1199	—
1½	1220	3,2	1304	8,7
5	1287	8,9	1465	22,1
24	1389	17,6	1577	14,8
48	1512	28,0	1359	13,3

Versuch 137 (Fig. 3).
0,8% NaCl bei 20° C.

Zeit	Ruhender Muskel		Tätig gewesener Muskel	
	Gewicht	Zunahme	Gewicht	Zunahme
Std.	mg	%	mg	%
	875	—	885	—
4	878	0,3	970	9,6
7½	888	1,4	1023	15,4
14	895	2,2	1140	28,7
32	907	3,8	1032	16,6

Versuch 111 (Fig. 4).
0,8% NaCl bei 15° C.

Zeit	Ruhender Muskel		Tätig gewesener Muskel	
	Gewicht	Zunahme	Gewicht	Zunahme
Std.	mg	%	mg	%
	1207	—	1214	—
1	1211	0,3	1275	5,0
4½	1229	1,7	1367	12,7
12½	1242	2,9	1437	18,3
22	1256	4,0	1399	14,4
24½	1257	4,1	1390	14,4
33	1268	5,0	1381	13,7
48	1322	9,5	1378	13,4

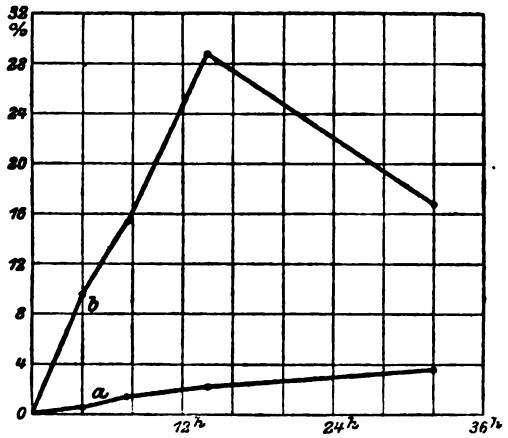


Fig. 3.

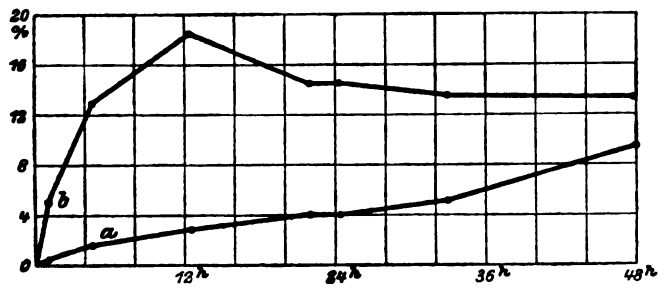


Fig. 4.

Versuch 109.

0,8% NaCl bei 15° C.

Zeit	Ruhender Muskel		Tätig gewesener Muskel	
	Gewicht	Zunahme	Gewicht	Zunahme
Std.	mg	%	mg	%
	1281	—	1238	—
1	1310	3,0	1320	6,6
3	1330	3,8	1378	11,3
18	1385	8,1	1519	22,7
24	1392	8,7	1487	20,1
50	1435	12,0	1476	19,2

Das Wasserbindungsvermögen der Muskeln in hyperisotonischen NaCl-Lösungen ist die Resultierende zweier einander entgegen wirkenden Kräfte, einerseits des osmotischen Druckes der hyperisotonischen Lösung, die dem Muskel Wasser zu entziehen sucht, und andererseits des von der Reaktion des Muskels

abhängigen Quellungsvermögens. Da dieses erst mit fortschreitender Milchsäurebildung an Größe gewinnt, so steht die Wasserbewegung im ruhenden Muskel in den ersten Stunden nach seinem Einbringen in die hyperisotonische Lösung mehr unter der wasserentziehenden Wirkung des osmotischen Druckes, die selbstverständlich um so stärker hervortritt, je größer die Hyperisotonie der Lösung ist, wie die folgenden Tabellen und Kurven deutlich zeigen. Die Wasseraufnahme eines tätig gewesenen Muskels steht bei mäßiger Hyperisotonie der Lösung ganz unter der Wirkung des durch die Tätigkeit gesteigerten Quellungsvermögens, zeigt also im wesentlichen kein anderes Verhalten als in einer isotonischen Kochsalzlösung. Nur in sehr stark hyperisotonischen Lösungen überwiegt auch hier in

Versuch 115 (Fig. 5).
0,9% NaCl bei 15° C.

Zeit	Ruhender Muskel		Tätig gewesener Muskel	
	Gewicht	Abnahme	Gewicht	Zunahme
Std.	mg	%	mg	%
—	1368	—	1363	—
1	1349	1,3	1405	3,0
3	1347	1,5	1445	6,0
6	1341	1,9	1513	10,9
9	1348	1,5	1599	17,3
13	1341	1,9	1613	18,5
24	1347	1,5	1564	14,7
29	1342	1,9	1563	14,6
32	1336	2,3	1558	14,3
37	1349	1,4	1550	13,7

Versuch 113 (Fig. 6).
0,9% NaCl bei 15° C.

Zeit	Ruhender Muskel		Tätig gewesener Muskel	
	Gewicht	Abnahme	Gewicht	Zunahme
Std.	mg	%	mg	%
—	1082	—	997	—
1	1068	1,3	1013	1,5
3	1066	1,4	1027	3,0
6	1057	2,3	1059	5,3
9	1052	2,8	1132	13,5
14	1052	2,8	1150	15,3
24	1048	3,1	1151	15,5
30	1046	3,3	1144	14,7
33	1041	3,8	1138	14,1

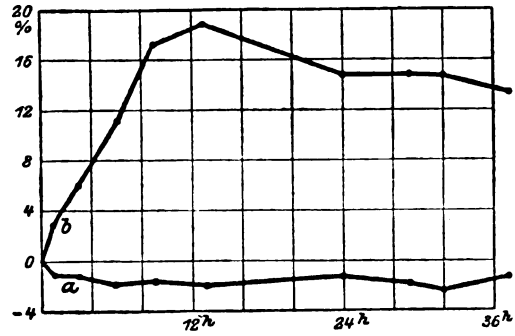


Fig. 5.

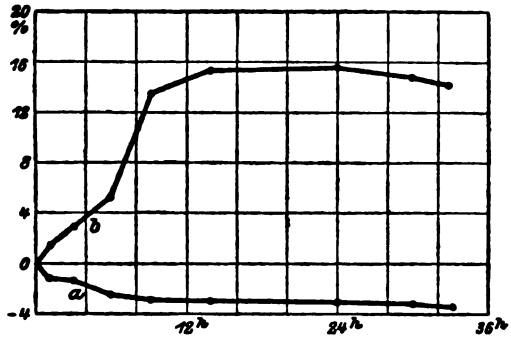


Fig. 6.

den ersten Stunden die wasserentziehende Wirkung der konzentrierten Lösung, so daß der Quellung des Muskels eine kurz dauernde Periode der Wasserabgabe vorausgeht.

Versuch 41 (Fig. 7).
1% NaCl bei 18° C.

Zeit	Ruhender Muskel		Tätig gewesener Muskel	
Std.	Gewicht mg	Abnahme %	Gewicht mg	Zunahme %
—	714	—	712	—
1½	698	2,2	709	− 0,4
5½	688	3,6	758	6,4
9½	685	4,0	822	15,4
12	686	3,9	844	18,5
24	712	0	874	22,0

Versuch 25 (Fig. 8).
1,5% NaCl bei 18° C.

Zeit	Ruhender Muskel		Tätig gewesener Muskel	
Std.	Gewicht mg	Gew.-änderung %	Gewicht mg	Gew.-änderung %
—	759	—	795	—
1	716	− 5	759	− 4,5
2	701	− 7	746	− 6
4	690	− 8	736	− 7
6	682	− 10	746	− 6
10	709	− 6	784	− 1,3
24	783	+ 3	883	+ 11

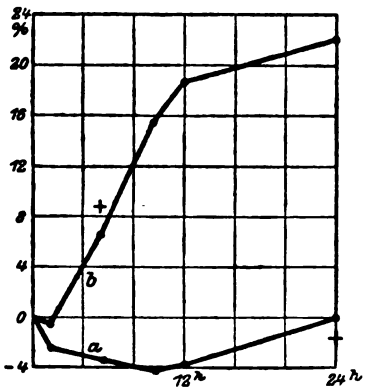


Fig. 7.

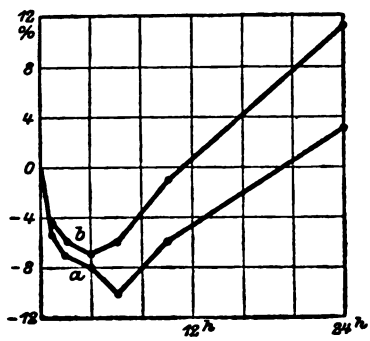


Fig. 8.

In hypoisotonischen Lösungen wirken Hypoisotonie der Lösung und Quellungsvermögen in gleichem Sinne, es ist demnach die Geschwindigkeit der Wasseraufnahme und die relative Menge des aufgenommenen Wassers größer als aus isotonischen Lösungen; dies gilt sowohl für den ruhenden wie auch für den tätig gewesenen Muskel. Die folgenden Tabellen werden diese Tatsachen ganz deutlich zum Ausdruck bringen.

Versuch 107.
0,6% NaCl bei 15° C.

Zeit	Ruhender Muskel		Tätig gewesener Muskel	
Std.	Gewicht mg	Zunahme %	Gewicht mg	Zunahme %
—	1235	—	1254	—
1	1288	4,3	1406	12,1
4	1343	8,7	1544	23,1
10	—	—	1692	35,0
24	1476	19,5	1562	24,5
66	1536	24,4	1513	20,6

Versuch 31.
0,5% NaCl bei 15° C.

Zeit	Ruhender Muskel		Tätig gewesener Muskel	
Std.	Gewicht mg	Zunahme %	Gewicht mg	Zunahme %
—	852	—	843	—
2½	958	12,4	995	18,0
5	999	17,2	1072	27,1
8	1028	20,6	1151	36,5
11	1047	22,8	1180	39,9
14	1058	24,1	1187	40,8
24	1067	25,2	1157	37,2
33	1082	26,9	1130	34,0

Nach den Untersuchungen von Fletcher und Hopkins[1]) nimmt die Geschwindigkeit der postmortalen Milchsäurebildung mit steigender Temperatur zu; es muß daher auch die Quellung eines ruhenden Muskels bei erhöhter Temperatur rascher vor sich gehen als bei Zimmertemperatur, so daß die Wasserbindungskurve eines ruhenden Muskels mit zunehmender Temperatur immer mehr und mehr sich derjenigen eines tätig gewesenen Muskels bei Zimmertemperatur nähern muß. Die Versuche 200 und 201 demonstrieren diese Tatsache ganz einwandfrei; bei Temperaturen von 28 bzw. 29° C der Lösung verlaufen die Quellungs- bzw. Entquellungskurven ruhender und tätig gewesener Muskeln fast ganz gleich. Bei einem tätig gewesenen Muskel kommt infolge des bereits vorhandenen relativ hohen Säuregehaltes durch die Erhöhung der Temperatur keine größere Geschwindigkeit der Quellung mehr zum Ausdruck.

[1]) l. c.

Diese Tatsache spricht zugunsten der von v. Fürth und Lenk[1]) vertretenen Anschauung über das Wesen der Totenstarre; denn die bekannte Erscheinung, daß mit zunehmender Temperatur der Eintritt wie die Lösung der Totenstarre rascher vor sich geht als bei niederer, findet in der größeren Geschwindigkeit, mit der das Quellungsmaximum erreicht wird, seine Erklärung. Ebenso sei hier darauf hingewiesen, daß auch der frühe Eintritt der Totenstarre nach Muskeltätigkeit in dem raschen Erreichen des Quellungsmaximums tätig gewesener Muskeln sein Analogon findet.

Versuch 200.
0,75% NaCl bei 29° C.

Zeit	Ruhender Muskel		Tätig gewesener Muskel	
	Gewicht	Zunahme	Gewicht	Zunahme
Std.	mg	%	mg	%
—	1092	—	1087	—
1	1102	0,9	1097	0,9
3½	1130	3,5	1138	4,6
5½	1166	6,7	1182	8,7
7½	1216	11,3	1218	12,0
9	1234	13,8	1235	14,4
10½	1258	16,1	1266	16,4
21½	1305	19,5	1315	21,0
23½	1318	20,6	1316	21,0
25	1321	20,9	1316	21,0
27	1344	23,0	1315	21,0
30	1348	23,4	1345	23,5

Versuch 201.
0,75% NaCl bei 28° C.

Zeit	Ruhender Muskel		Tätig gewesener Muskel	
	Gewicht	Zunahme	Gewicht	Zunahme
Std.	mg	%	mg	%
—	1080	—	1093	—
2½	1116	3,3	1156	5,7
4½	1135	5,0	1196	9,4
6	1172	8,5	1241	13,5
9½	1261	16,7	1296	18,5
19	1285	19,0	1318	20,5
21	1317	21,8	1347	23,5
22	1325	22,7	1365	24,8
34	1302	20,5	1361	21,7

Fletcher und Hopkins[2]) haben auch gezeigt, daß durch Erhöhung des Sauerstoffpartialdruckes im ausgeschnittenen Muskel die Bildung von Milchsäure verhindert bzw. die bereits gebildete Milchsäure weggeschafft werden kann. Mit Rücksicht auf die Bedeutung der postmortalen Milchsäurebildung für die Quellung bzw. Entquellung der Muskelkolloide konnte sehr leicht der Einfluß von Sauerstoff auf die Quellungsvorgänge zur Darstellung gebracht werden. So wird auch in den unten folgenden Versuchen 210 und 211 gezeigt, daß einerseits die

[1]) l. c.
[2]) l. c.

Wasseraufnahme eines ruhenden Muskels in Sauerstoff gesättigter 0,75%iger Kochsalzlösung durch viele Stunden ganz gehindert werden kann und andererseits die Wasseraufnahme eines tätig gewesenen Muskels unter denselben Bedingungen ungemein verzögert wird, so daß die Wasserbindungskurve eines tätig gewesenen Muskels in Sauerstoffatmosphäre der eines ruhenden Muskels in Luft gleicht. Die Sauerstoffzufuhr wurde durch Durchleitung von Sauerstoff durch die Kochsalzlösung während der ganzen Versuchsdauer besorgt.

Diese Versuche stehen vollständig im Einklang mit den Versuchen von Fletcher[1]) und denen von Winterstein[2]) über die Verzögerung des Eintrittes der Totenstarre durch Sauerstoffzufuhr und stützen dadurch die Quellungshypothese, wie sie von v. Fürth und Lenk ausgesprochen wurde.

Versuch 210.

0,75% NaCl bei 20° C.

Zeit	Tätig gewesene Muskeln in Luft		Sauerstoff	
	Gewicht	Zunahme	Gewicht	Zunahme
Std.	mg	%	mg	%
—	803	—	766	—
2½	832	3,6	787	2,7
6½	846	5,3	781	1,9
7½	849	5,7	785	2,4
9	854	6,3	786	2,4
11	858	6,8	786	2,4
12½	861	7,2	786	2,4
22	907	12,9	793	3,5
24	931	15,9	795	3,7
26	956	19,0	798	4,7
36	1059	31,8	832	8,6
46	1092	48,4	925	20,7

Versuch 211.

0,75% NaCl bei 20° C.

Zeit	Tätig gewesene Muskeln in Luft		Sauerstoff	
	Gewicht	Zunahme	Gewicht	Zunahme
Std.	mg	%	mg	%
—	1207	—	1187	—
2	1257	4,1	1206	1,6
5	1272	5,3	1213	2,1
8	1303	7,9	1216	2,4
13	1326	9,8	1206	1,6
21	1361	12,8	1214	2,2
25	1385	14,7	1226	3,2
28	1398	15,8	1232	3,8
31	1436	18,9	1252	5,4
34	1488	23,2	1272	7,1
38	1533	27,0	1296	9,1

Zusammenfassung der Versuchsergebnisse.

1. Ruhende wie tätig gewesene ausgeschnittene Froschmuskeln zeigen in isotonischen Kochsalzlösungen (0,7 bis 0,8%

[1]) Fletcher, Journ. of Physiol. 28, 474, 1902.

[2]) H. Winterstein, Arch. f. d. ges. Physiol. 120, 225, 1907.

NaCl) Gewichtsveränderungen, die sich durch eine durch ein Maximum hindurchgehende Kurve darstellen lassen. Der ansteigende Teil der Kurve entspricht einer Wasseraufnahme des Muskels im Sinne einer Quellung, der absteigende Teil einer Wasserabgabe, einer Entquellung der Muskelkolloide.

2. Die Quellungs- und Entquellungskurven eines ruhenden und eines tätig gewesenen Muskels sind nur durch den zeitlichen Ablauf voneinander verschieden. Während der ruhende Muskel eine ganz allmähliche Wasseraufnahme zeigt, die in den ersten Stunden auch vollständig fehlen kann und bei Zimmertemperatur (15° bis 20° C) erst in 72 bis 96 Stunden ihr Maximum erreicht, erfährt der tätig gewesene Muskel eine sehr rasche Wasseraufnahme, die bereits nach 5 bis 18 Stunden zum Maximum führt.

3. Das Maximum der Wasseraufnahme aus isotonischen Lösungen beträgt ca. 20 bis 30% des Muskelgewichtes und ist im ruhenden und im tätig gewesenen Muskel desselben Frosches von derselben Größe.

4. Die Quellung und Entquellung ruhender Muskeln haben ihre Ursache in der postmortal sofort einsetzenden und allmählich zunehmenden Milchsäurebildung. Erhöhung der Temperatur beschleunigt die Milchsäurebildung und damit auch die Quellung eines ruhenden Muskels, während Unterdrückung bzw. Verzögerung der Milchsäurebildung durch reichliche Sauerstoffzufuhr die Quellung ebenso verhindert bzw. deutlich verzögert.

5. Die im Gegensatz zu den ruhenden Muskeln sehr rasch vor sich gehende Quellung tätig gewesener Muskeln ist durch die bei der Tätigkeit entstandenen und infolge der fehlenden Zirkulation nicht weggeschafften sauren Stoffwechselprodukte, vor allem durch die Milchsäure bedingt. Reichliche Sauerstoffzufuhr verhindert bzw. verzögert durch Wegschaffung der Milchsäure die Quellung tätig gewesener Muskeln.

6. In hyperisotonischen Lösungen ist die sehr große und relativ rasch erfolgende Wasseraufnahme ruhender Muskeln auf das Zusammenwirken des osmotischen Druckes der Lösung und der Quellung infolge postmortaler Milchsäurebildung zurückzuführen.

7. In hyperisotonischen Lösungen ist die Wasseraufnahme das Resultat zwei entgegenwirkender Kräfte, des osmotischen

Druckes der Lösung, die den Muskel zur Wasserabgabe zwingt, und der durch die postmortale Säuerung bedingten Quellung.

8. Die Versuche bestätigen die Quellungshypothese v. Fürths und Lenks über das Wesen der Totenstarre, indem sie den Nachweis erbringen, daß, wenn die durch die postmortale Säurebildung bedingte Quellung die Ursache der Totenstarre ist, das Maximum der Quellung also auch das der Totenstarre bei tätig gewesenen Muskeln und bei ruhenden bei erhöhter Temperatur gehaltenen Muskeln früher eintritt, als bei ruhenden bei Zimmertemperatur gehaltenen. Ebenso zeigen sie auch, daß durch reichliche Sauerstoffzufuhr die Quellung verzögert bzw. gehindert werden kann, wie es auch von für den Eintritt der Totenstarre bereits nachgewiesen ist.

Über die Verteilung der reduzierenden Substanzen im Säugetierblut.

Erwiderung auf die gleichnamige Arbeit von H. Lyttkens und J. Sandgren

Von

L. Michaelis und P. Rona.

(Eingegangen am 9. Oktober 1911.)

In der Arbeit in dieser Zeitschrift, 36, 261 bemühen sich Lyttkens und Sandgren nachzuweisen, daß unsere Angaben über den Zuckergehalt der Blutkörperchen unrichtig sind und auf einer ungeeigneten Methodik beruhen. Wir können darauf erwidern, daß mehrere Autoren, zum Teil unabhängig von uns, zum Teil im Anschluß an unsere Befunde und mit anderen Methoden arbeitend (Lépine, Hollinger, E. Frank, E. Frank und E. Moeckel, E. Frank und A. Bretschneider) zu dem gleichen Resultat gekommen sind wie wir.

Gleich in unseren ersten Mitteilungen wiesen wir auf die sehr häufig vollkommene Übereinstimmung der Zuckerwerte im Plasma und im Gesamtblute beim Hunde hin. Dieselbe Angabe findet sich auch bei Hollinger[1]), der nach einer ganz anderen Methode gearbeitet hat (Enteiweißung nach Schenck, Zuckerbestimmung mittels Reduktion nach Knapp), für den Menschen. So finden wir in seiner Tabelle I (l. c., S. 3) folgende Zahlen:

Versuch	Zuckergehalt	
	des Gesamtblutes	des Serums
Nr.	%	%
1	0,080	0,082
2	0,082	0,083
3	0,078	0,079
4	0,077	0,086
5	0,104	0,093
6	0,101	0,101
7	0,084	0,078
8	0,104	0,105

[1]) Diese Zeitschr. 17, 1.

Dieselbe Angabe finden wir auch bei E. Frank[1]), der die Zuckerbestimmung nach Bertrand, also ebenfalls nach einer Reduktionsmethode, vollführt hat. Nehmen wir z. B. die erste Hälfte seiner Fälle in Tabelle I (S. 135), so treffen wir auf folgende Zahlen (Mensch):

Versuch	Zuckergehalt	
	im Gesamtblut	im Plasma
Nr.	%	%
1	0,095	0,0825
2	0,117	0,103
3	0,102	0,096
4	0,1	0,09
5	0,08	0,08
6	0,071	0,072
7	0,11	0,11
8	0,103	0,103
9	0,104	0,104
10	0,165	0,173
11	0,120	0,133
12	0,185	0,202
13	0,296	0,32
14	0,2	0,23
15	0,046	0,05

Und ebenfalls in Übereinstimmung mit diesen Autoren konnten wir auf die ebenso sicheren Fälle größerer Inkongruenz der beiden Zuckerwerte hinweisen.

Ferner konnten wir im Verlaufe unserer Untersuchungen finden, daß Eingriffe, die den Zuckergehalt des Plasmas bedeutend zu erhöhen befähigt sind (Aderlaß, Zufuhr großer Traubenzuckermengen), auch diesen „Blutkörperchenzucker" erhöhen.

Sprechen diese Befunde schon sehr zugunsten der Ansicht, daß wir es bei dem rechtsdrehenden und reduzierenden Körper der Blutkörperchen (dessen Existenz bis jetzt von allen Nachuntersuchern bestätigt wurde) mit Traubenzucker zu tun haben, so lag für uns um so weniger Grund vor, an der Traubenzuckernatur des betreffenden Körpers zu zweifeln, da wir diesen stets glatt vergären konnten. Kurz nach der ersten Mitteilung von Lyttkens und Sandgren, in der die Vergärbarkeit dieses Körpers negiert wird, teilten nun Frank und Bretschneider[2])

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 70, 135.

[2]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 71, 157.

ihre diesbezüglichen Befunde mit, wobei sie fanden, daß nach der Vergärung des Gesamtblutes darin keine reduzierenden Stoffe (mit Bertrand) mehr nachweisbar sind. Ihre Zahlen für das Gesamtblut beim Menschen (1 bis 5) und beim Kaninchen (6 bis 8) sind die folgenden:

Versuch Nr.	Zuckergehalt vor der Vergärung %	Zuckergehalt nach der Vergärung %
1	0,11	0
2	0,08	0
3	0,07	0
4	0,076	0
5	0,44	0
6	0,47	0
7	0,77	0,03
8	0,28	0,0035

Daraus schließen diese Autoren, daß „die mit der Methode Bertrands erhaltenen Reduktionswerte im Plasma und Gesamtblut quantitativ auf Traubenzucker zu beziehen sind, selbst wenn es sich um exzessive Grade von Hyperglykämie handelt“[1]).

Aus diesen mitgeteilten Zahlen erhellt es zur Genüge, daß unsere Befunde keineswegs vereinzelt dastehen, und daß, worauf es vor allem ankommt, die Differenz zwischen unseren Angaben und denen von Lyttkens und Sandgren nicht auf die von uns geübte Methodik zurückgeführt werden kann, da dieselben Angaben auch von Autoren, die nach einer von uns abweichenden Methodik gearbeitet haben, erhoben worden sind.

Schließlich müssen wir es als eine wesentliche Unterlassung bezeichnen, wenn Lyttkens und Sandgren keinerlei Angaben über das polarimetrische Verhalten ihrer zuckerfreien, aber reduzierenden Flüssigkeiten machen. Von einer einseitigen Methodik können weitere Aufschlüsse nicht mehr erwartet werden, sondern nur durch gleichzeitige Verarbeitung des Materials nach verschiedenen Methoden. In derart angelegten Versuchen[2]) in unserem Laboratorium sind uns allerdings Diskrepanzen wesentlicher Natur nicht begegnet.

[1]) Auch im Original gesperrt.

[2]) Vgl. die Arbeit von Takahashi in diesem Band.

Bezüglich des Reaktionsoptimums bei der Invertinwirkung.

Von

Aristides Kanitz.

(Eingegangen am 10. Oktober 1911.)

In der jüngsten Zeit ist dem Einfluß des Wasserstoffions bei der Hydrolyse des Rohrzuckers mittels Invertin eine größere Aufmerksamkeit zugewandt worden. Sörensen[1]), Euler und Beth af Ugglas[2]) sowie Michaelis und Davidson[3]) haben sich mit der genauen Bestimmung der optimalen H·-Konzentration und deren Bedeutung beschäftigt.

Diesen Arbeiten mußte aber die Erkenntnis vorangehen, daß es sich bei der fördernden Wirkung von Säuren bestimmter Konzentration um eine Ionenwirkung handelt, und vor allem, daß dabei das Wasserstoffion und nicht das Anion von ausschlaggebender Bedeutung ist. „Auf Grund aller früheren Untersuchungen (O'Sullivan und Thompson, Duclaux, Henri usw.) konnte man schon behaupten", schreiben Michaelis und Davidson[4]) „daß die Wirkung des Invertins bei einer ganz bestimmten Acidität ein Maximum haben müsse." Aber weder die genannten, noch die mit usw. zusammengefaßten Autoren haben diese Folgerung gezogen. Wohl aber habe ich das in einer vor langem erschienenen Arbeit[5]) getan, und für den speziellen Fall der Wirkung des Invertins von Aspergillus niger bei 56° sogar die optimale Wasserstoffion-

[1]) S. P. L. Sörensen, Enzymstudien II. Diese Zeitschr. 21, 131, 1909.

[2]) Hans Euler und Beth af Ugglas, Untersuchungen über die chemische Zusammensetzung und Bildung der Enzyme. I. Mitteilung. Zeitschr. f. physiol. Chem. 65, 124, 1910.

[3]) Leonor Michaelis und Heinrich Davidson. Die Wirkung der Wasserstoffionen auf das Invertin. Diese Zeitschr. 35, 386, 1911.

[4]) l. c., S. 387.

[5]) A. Kanitz, Über den Einfluß der Wasserstoffionen auf die Invertase des Aspergillus niger. Arch. f. d. ges. Physiol. 100, 547, 1903.

konzentration zu $^n/_{200}$ bis $^n/_{2000}$ ($3{,}3 \times 10^{-3}$ bis $3{,}3 \times 10^{-4}$) berechnet. Ich hatte damals nicht nur darum gerade das Aspergillusinvertin für meine Berechnungen gewählt, weil darüber ein ausgedehntes Beobachtungsmaterial vorlag, sondern auch deshalb, weil sein Optimum bei einer größeren Wasserstoffionkonzentration als das des Hefeinvertins zu liegen schien, wodurch die Rechnungsfehler kleiner werden mußten. Nachdem nun aber das $H^{\cdot}$-Optimum des Hefeinvertins von Michaelis und Davidson bei 18° zu 1×10^{-3} bis $6{,}5 \times 10^{-6}$, von Sörensen bei 52° zu 3×10^{-4} bis 3×10^{-6} bestimmt worden ist, würde es mich nicht wundern, wenn beide Invertine unter ganz gleichen Bedingungen identische Optima haben sollten.

Hervorheben möchte ich, daß ich schon damals das Optimum als zwischen zwei Grenzkonzentrationen liegend — als eine optimale Zone — angegeben und durch entgegengesetzte Wirkungen entstanden aufgefaßt habe, und dieser Auffassung dadurch Ausdruck gab, daß ich die angegebene obere Grenze der optimalen Zone als diejenige $H^{\cdot}$-Konzentration kennzeichnete, die das Ferment noch nicht merklich schädigt.

Schließlich will ich noch darauf hinweisen, daß meine damalige Angabe des Optimums nicht dadurch als beeinträchtigt angesehen werden kann, daß ich eine eventuelle Bindung der Säure nicht in Betracht gezogen hätte. Denn meine Ableitung des Optimums bestand eben darin, daß ich gezeigt habe, daß sehr verschieden starke Säuren (Schwefel-, Oxal-, Wein-, Bernstein-, Milch- und Essigsäure) in solchen Konzentrationen optimal wirken, in denen sie in bezug auf Wasserstoffion gleich konzentriert sind. Wäre nun eine in Betracht kommende Bindung von Säure durch irgendeinen Bestandteil des Systems erfolgt, so hätte sich aus den Versuchen mit starken Säuren — wie man jetzt sagt, infolge der mangelnden Pufferwirkung — eine wesentlich höhere $H^{\cdot}$-Konzentration als Optimum ergeben müssen als aus den Versuchen mit schwachen Säuren. Tatsächlich hat sich aber, um den extremsten Fall anzuführen, innerhalb der Fehlergrenzen die gleiche $H^{\cdot}$-Konzentration aus den Schwefelsäure- wie aus den Essigsäureversuchen ergeben, obwohl die optimale molare Konzentration im zweiten Falle 180mal größer als im ersten war.

Über den Gehalt der (weißen und roten) quergestreiften und glatten Muskeln verschiedener Tiere an Kalium, Natrium und Chlor.

Von

A. Costantino.

(Aus dem physiologischen Institut der K. Universität Neapel.)

(Eingegangen am 10. Oktober 1911.)

I. Einleitung und Angaben über die Literatur.

An Untersuchungen, die sich auf das Studium der anorganischen Bestandteile der Muskeln beziehen, fehlt es nicht in der Literatur, und man kann sagen, daß sie bis auf die ersten Dezennien des 19. Jahrhunderts zurückdatieren. Schon damals wurden Angaben gemacht, die genügten, um die Qualität und Quantität der in den Muskeln enthaltenen Mineralstoffe festzustellen.

Mit Berzelius[1]) betreten wir an der Hand ganz bestimmter Kriterien dieses Gebiet der physiologischen Chemie, das dann durch die Arbeiten Liebigs[2]) und zahlreicher anderer Forscher sich für die Wissenschaft so fruchtbar gestaltete. Die Untersuchungen, auf die ich hinweise, erstreckten sich hauptsächlich auf das magere Muskelfleisch, d. h. auf die quergestreifte Muskulatur der Tiere.

---

[1]) J. J. Berzelius, Lehrb. d. Chemie, deutsch v. Wöhler, 9, 574; 1840.

[2]) J. v. Liebig, Die Bestandteile der Flüssigkeiten des Fleisches. Annal. d. Chem. u. Pharm. 62, 257 bis 368, 1847.

Während jedoch die Fundamente dieses Problems nach und nach gelegt wurden, blieb die Frage nach der Anwesenheit oder Abwesenheit des Chlors und Natrium im Muskelgewebe eine offene. Die angetroffene kleine Menge Natrium und Chlor ließ viele annehmen, daß diese Elemente aus dem Blute und aus der Lymphe stammten, von denen es unmöglich ist, die zu untersuchenden Muskeln vollkommen zu befreien

Aus den an Fleischbrühe gemachten Analysen Kellers[1]) ergibt sich der Wert für das Natrium gleich Null, und das Chlor würde ausschließlich als mit dem Kalium verbunden erscheinen. Niedrige Werte für Natrium und Chlor finden sich in den Analysen von Weber[2]), die sich auf vom Blut mittels Abwaschens mit Wasser befreite Pferdemuskeln beziehen. In diesen Analysen figuriert ein geringer Gehalt an Na_2O, nämlich gleich 4,86 (% der Asche), und ein als Chlornatrium berechneter Chlorgehalt gleich 1,47 (% der Asche). Obwohl diese Daten mit zuverlässigen analytischen Methoden erhalten waren (Zusatz, während der Veraschung, von Stoffen, die geeignet waren, die Verflüchtigung von Elementen zu verhindern), verdienen sie dennoch wenig Beachtung wegen der Abwaschungen mit Wasser, die gewiß einen Verlust an Salzen von seiten des Muskelgewebes herbeiführten.

Analoge Resultate ergaben die Analysen von Staffel[3]) an Kalbfleisch: $Na_2O = 2{,}35$; $K_2O = 34{,}40$; $NaCl = 10{,}59$ (% der Asche); von Echevarria[4]) an Schweinefleisch: $Na_2O = 3{,}31$; $K_2O = 35{,}83$; Chlor $= 0{,}59$ (% der Asche); von Stoelzel[5]) an Ochsenfleisch: $Na_2O = 0$; $K_2O = 35{,}94$; $KCl = 10{,}22$ (% der Asche). Ebenfalls niedrige Werte für Natrium und Chlor, die sich aber in diesem Falle auf frisches Fleisch beziehen, sind die von K. Hoffmann[6]) bei Säugetieren erhaltenen: $Na_2O = 0{,}4 - 0{,}41$; $K_2O = 3{,}0 - 3{,}9$; $NaCl = 0{,}04 - 0{,}1$ (‰ von frischen Muskeln); von G. Bunge[7]) für Kalbfleisch: $Na_2O = 0{,}77$; $K_2O = 4{,}654$; Chlor $= 0{,}672$ (‰ von entfettetem Fleisch); endlich die neueren Daten

---

[1]) Franz Keller, Die anorganischen Bestandteile des Fleisches, nebst einigen Bemerkungen über die Aschenanalysen von Tiersubstanz. Annal. d. Chem. u. Pharm. 70, 91, 1849.

[2]) Weber, Poggend. Annal. 76, 372, 1850. (Präparierung der Asche nach der Roseschen Methode.)

[3]) Staffel, Arch. f. Pharm. 76, 372. (Präparierung der Asche nach der Roseschen Methode.)

[4]) Echevarria, Analyse der Asche von ungesalzenem Schweinefleisch. Annal. d. Chem. und Pharm. 81, 373, 1852.

[5]) C. Stoelzel, Analyse der anorganischen Bestandteile des Blutes und Fleisches von Ochsen. Annal. d. Chem. u. Pharm. 77, 256, 1851. (Asche nach Strecker.)

[6]) K. Hoffmann, Lehrbuch der Zoochemie, Wien, S. 104.

[7]) G. Bunge, Zeitschr. f. phys. Chem. 9, 60. (Bezüglich der Präparierung der Asche siehe Zeitschr. f. Biol. 10, 295, 1874 und 12, 214, 1876).

von J. Katz[1]) für Kalbfleisch: $Na_2O = 1{,}15$; $K_2O = 4{,}5776$; Chlor = 0,6729 (‰ von frischem Fleisch).

Aus allen diesen Untersuchungen und anderen, die ich der Kürze halber nicht anführe, ergibt sich augenfällig die Verschiedenheit des Kalium- und Natriumgehaltes in den Muskeln, wie auch die geringe Menge des Chlorgehalts. Die Forscher aus jüngster Zeit sind Urano[2]) und Fahr[3]), die auf das Fehlen des Natriums und des Chlors in den Froschmuskeln schließen, weil sie fanden, daß das Natrium in den Muskeln nach einem viele (48) Stunden dauernden Eintauchen derselben in eine isotonische Zuckerlösung stark abnimmt oder fehlt. Ich will mich nicht dabei aufhalten, diese Schlußfolgerung, die ich für irrig halte, weiter zu erörtern. Der Natriumgehalt der Muskeln ist ohne Zweifel geringer als ihr Kaliumgehalt; die Zuckerlösung extrahiert, die eine mehr, die andere weniger, es braucht also nicht wunderzunehmen, wenn der Natriumgehalt nach einer solchen Extrahierung abnimmt. In der Tat beweisen die Analysen der beiden Autoren, daß in den Zuckermuskeln auch der Gehalt an Asche und an Kalium abnimmt.

Mit welchem Recht nehmen nun die Autoren an, daß das vom Muskel verlorene Natrium aus der interstitiellen Lymphe und nicht aus den Muskelfasern stammt, da ja der Muskel unter denselben Bedingungen auch Kalium verliert, das gewiß ein integrierender Teil der Muskelsubstanz ist?

So viel ist bis jetzt über den Kalium- und Natriumgehalt der Muskeln bekannt, wobei man berücksichtigen muß, daß die Werte oft mit nicht einwandfreien Methoden erhalten wurden (schlechte Auswahl des Materials, Veraschung auf trockenem Wege bei hoher Temperatur usw.). Sehr wenig oder fast nichts weiß man ferner über den Kalium- und Natriumgehalt der verschiedenen Muskelarten.

Schloßberger[4]) behauptet in Übereinstimmung mit Leh-

---

[1]) J. Katz, Arch. f. d. ges. Physiol. 63, 1, 1896.

[2]) F. Urano, Neue Versuche über die Salze des Muskels. Zeitschr. f. Biol. 50, 217, 1907.

[3]) G. Fahr, Über den Natriumgehalt der Skelettmuskeln des Frosches. Zeitschr. f. Biol. 52, 72, 1909.

[4]) Schloßberger, Die Chemie der Gewebe des gesamten Tierreichs. Leipzig, 1 bis 2, 169, 1856.

mann[1]), zwischen den quergestreiften und den sog. „organischen" Muskeln sei kein chemischer Unterschied vorhanden. Von Gorup-Besanez[2]) weist darauf hin, daß in den glatten Muskeln sich stets mehr Kalium als Natrium vorfindet; später sagte W. D. Halliburton[3]), das Überwiegen des Kaliums dem Natrium gegenüber scheine im ganzen Tierreich ohne Ausnahme der Fall zu sein. Derselben Ansicht war Neumeister[4]), der sagt: „Die glatten Muskeln zeigen in ihrem chemischen Verhalten von den quergestreiften kaum Abweichungen." Ferner sagt derselbe Autor, indem er eine Arbeit von Th. Weyl zitiert: „Dagegen finden sich bei den ursprünglich als Muskeln angelegten elektrischen Organen der Fische gegenüber der kontraktilen Muskulatur erhebliche Differenzen." Wie sich nämlich aus den am elektrischen Organ von Torpedo ocellata angestellten Untersuchungen von Th. Weyl[5]) ergibt, findet sich das Natrium in diesem Organ in erheblicher Menge im Vergleich zu der geringen Menge Kalium, die es enthält. Vor kurzem ist diese Tatsache von Baglioni[6]) bestätigt worden.

Während, wie wir gesehen haben, die analytischen Daten bezüglich der quergestreiften Muskulatur in reichem Maße vorhanden sind, fehlen sie gänzlich bezüglich der glatten Muskulatur. Es waren also systematische Untersuchungen in dieser Richtung nötig, um mit Hilfe experimenteller Daten, die an passend gewähltem Material und mit genauer Forschungsmethode erhalten wurden, festzustellen, welche Ähnlichkeiten und Unterschiede zwischen den verschiedenen Arten von Muskeln hinsichtlich des Gehaltes an Kalium, Natrium und Chlor existieren. Ich habe diese systematischen Untersuchungen auf Anraten des Herrn Prof. Bottazzi unternommen und an Muskeln von Säugetieren und Vögeln durchgeführt. In der Mehrzahl der Fälle wurden die Tiere entblutet, um die Muskeln von einer möglichst großen Menge Blut zu befreien; aber das zu analysierende Material wurde keiner anderen Behandlung unterzogen, nur wurde jede sichtbare Spur von Binde- und Fettgewebe entfernt.

[1]) G. Gotthelf Lehmann, Lehrbuch der physiol. Chemie 1 bis 3, 3. Aufl., 1853; Zoochemie, Leipzig und Heidelberg, 1858 (findet sich im großen Handbuch der Chemie von Gmelin, 1858).

[2]) v. Gorup-Besanez, Lehrbuch der physiol. Chemie, Braunschweig, 696, 1874.

[3]) W. D. Halliburton, Lehrb. der chemischen Physiol. u. Pathol. 449, 1893.

[4]) Neumeister, Physiol. Chemie, 2. Aufl., 442, 1897.

[5]) Th. Weyl, Physiologische und chemische Studien an Torpedo. Zeitschr. f. physiol. Chem. 7, 541, 1883.

[6]) S. Baglioni, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 8, 456, 1906.

II. Untersuchungsmethode.

Die von mir befolgte Veraschungsmethode war die auf feuchtem Wege von A. Neumann[1]).

Ich hielt es für nützlich diese Methode anzuwenden, da sie vor der auf trockenem Wege den Vorzug hat, daß die Verluste an Alkalisalzen vermieden werden, und daß sie also mit Erfolg bei dieser Art von analytischen Bestimmungen verwendet werden kann. Das von mir befolgte Verfahren kann, soweit es die Bestimmung des Kaliums und Natriums betrifft, auf folgende Weise zusammengefaßt werden.

Die Verbrennung der bei 110 bis 112° getrockneten Muskelsubstanz erfolgte, nachdem ein homogenes Pulver daraus bereitet worden war, in einem ca. 700 ccm fassenden Jenenser Glaskolben, und zwar wurde mit 10 ccm A. Neumann-sches Säuregemisch (1 Teil konzentr. H_2SO_4 + 1 Teil konzentr. HNO_3 eingeleitet). Der auf ein Amiantnetz gebrachte Glaskolben wurde allmählich erhitzt und die Verbrennung durch Zusatz von neuem Gemisch gefördert. Dieser Zusatz wurde vermittelst eines Trichters gemacht, der in einem auf dem Hals des Glaskolbens angebrachten Kapillarrohr endete. Auf diese Weise erzielte ich ein Abtropfen des Säuregemisches, und die Erschütterungen der in Verbrennung begriffenen Masse wurden vermieden. Das Ende der Verbrennung war durch das Verschwinden der braunen Dämpfe und durch das Farbloswerden der Flüssigkeit angezeigt, die infolge lang andauernder Erhitzung nicht mehr braun wurde. Die auf diese Weise erhaltene Lösung der Asche wurde in einem Porzellantiegel im Luftbad bis zur vollständigen Entfernung der Schwefelsäure verdampft. Der in Wasser gelöste Rückstand wurde zur Bestimmung des Natriums und Kaliums den gewöhnlichen Behandlungsweisen unterzogen. Was die Trennung des Natriums vom Kalium betrifft, befolgte ich genau das von Treadwell in seinem analytischen Handbuch vorgeschriebene Verfahren. Ich präparierte und bestimmte das Kaliumplatinchlorid, indem ich den von diesem Autor zur Berechnung des Kaliums und des Kaliumchlorids aus der Menge des erhaltenen Platinchlorids angegebenen Faktor verwendete.

---

[1]) A. Neumann, Arch. f. (Anat. u.) Physiol. 1905, 208.

Auch zur Bestimmung des Chlors befolgte ich die Methode (auf feuchtem Wege) von A. Neumann, die die schnellste und genaueste ist. Dieses Verfahren leistet hinlänglich Garantie gegen den Verlust von Chlor, während immer unvermeidlich ein Teil des Chlors entweicht, wenn man die alte Methode der Veraschung (auf trockenem Wege) anwendet. Ich hielt es jedoch für zweckmäßig, die Bestimmung des Chlors, die Neumann nach der volumetrischen Methode zu machen anrät, unter Berücksichtigung der Überlegungen Plimmers[1]) nach der maßanalytischen Methode vorzunehmen, indem ich das sich bildende Silberchlorid quantitativ bestimmte.

Die Methode besteht kurz in folgendem: Die bei 110 bis 112° getrocknete und pulverisierte Muskelsubstanz wurde in Glasröhren gewogen und dann in einen Reagenskolben gebracht. Dieser Reagenskolben war mit einem Kühler mittels bloßer Glasröhren verbunden; das andere Ende des Kühlers wurde mit einem Volhardschen Flasche verbunden, das eine Silbernitratlösung enthielt. Auf diese Weise erhielt ich ein geschlossenes System mit hydraulischer Klappe. Die Reaktion zwischen der Muskelsubstanz und dem A. Neumannschen Säuregemisch (1 Teil konzentr. HNO_3 + 1 Teil konzentr. H_2SO_4 + 1 Teil H_2O) begann mit einer kleinen Flamme, wobei der Reagenskolben anfangs nur 20 ccm Gemisch enthielt. Als die Reaktion, die zuerst lebhaft war, schwächer zu werden anfing, ließ ich tropfenweise weiteres Gemisch zu vermittels eines in der Wand des Reagenskolbens befestigten mit einem Hahn versehenen Trichters. Unterdessen wurde die Temperatur so gesteigert, daß ein Teil überdestillierte. Diese Behandlung wurde fortgesetzt, bis die Flüssigkeit im Reagenskolben sich allmählich entfärbte und einen leicht gelblichen Ton angenommen hatte.

Als dies erreicht war, konnte ich die Verbrennung für beendet halten. Ihre Dauer betrug ungefähr 1 Stunde. Die Salzsäure, die sich gebildet und in dem Volhardschen Flasche in Gestalt von Silberchlorid gesammelt hatte, wurde zugleich mit der darin enthaltenen Flüssigkeit in ein geeignetes Gefäß gebracht und länger als $^1/_2$ Stunde gekocht wurde.

[1]) Z. H. Plimmer, The formation of prussic acid by the oxydation of albumins. The Journal of Phys. 31, 64, 1904.

Auf diese Weise zersetzt sich das durchschnittlich an salpetersauren Dämpfen reiche Silbercyanid (das ebenfalls in großer Menge bei der Reaktion infolge Bildung von Cyanwasserstoff entstand) leicht und vollständig, indem es Cyanwasserstoff freimacht, der ausgetrieben wird.

Das Chlorsilber-Präcipitat wurde im Goochschen Tiegel aufgefangen, zuerst mit kaltem Wasser ausgewaschen, dann mit Alkohol, und endlich bei 130° getrocknet.

III. Analytische Belege.

I. Stierfleisch.

Glatte Muskeln (Magen). Die für diese Bestimmung gebrauchten Muskeln wurden von uns selbst im Schlachthaus nach dem vollständigen Verbluten des Tieres entnommen. Die Muskeln wurden sorgfältig präpariert. Die verwendete Substanz stammte von zwei Tieren.

118,46 g frisches Fleisch gaben 23,92 g Trockensubstanz.

Feste Stoffe (110 bis 112°) auf 100 Teile frisches Fleisch = 20,19 g,
Wasser „ 100 „ „ „ = 79,81 g.

Alkalien I. 9,1840 g trockenes Fleisch aus 45,48 g frischem Fleisch gaben 0,4192 g Alkalichloride und 1,0420 g Kaliumplatinchlorid

= 0,1671 g K = 3,674‰ K
= 0,2012 g K_2O = 4,425‰ K_2O } bezogen auf frisches Fleisch,
= 1,820 g % K
= 2,191 g % K_2O } bezogen auf Trockensubstanz,
= 0,0397 g Na = 0,8728‰ Na
= 0,0535 g Na_2O = 1,176‰ Na_2O } bezogen auf frisches Fleisch,
= 0,4322 g % Na
= 0,5822 g % Na_2O } bezogen auf Trockensubstanz.

Alkalien II. 9,1840 g trockenes Fleisch aus 45,48 g frischem Fleisch gaben 0,4192 g Alkalichloride und 1,0315 g Kaliumplatinchlorid

= 0,1654 g K = 3,637‰ K
= 0,1992 g K_2O = 4,381‰ K_2O } bezogen auf frisches Fleisch,
= 1,801 g % K
= 2,169 g % K_2O } bezogen auf trockenes Fleisch,
= 0,0409 g Na = 0,901‰ Na
= 0,0552 g Na_2O = 1,213‰ Na_2O } bezogen auf frisches Fleisch,
= 0,4462 g % Na
= 0,601 g % Na_2O } bezogen auf trockenes Fleisch.

Chlor I. 4,4484 g trockenes Fleisch aus 22,03 g frischem Fleisch lieferten 0,0914 g Chlorsilber

= 1,025 g ‰ Cl auf frisches,
= 0,508 g % Cl auf trockenes Fleisch bezogen.

Chlor II. 3,2980 g trockenes Fleisch aus 16,33 g frischem Fleisch lieferten 0,0714 g Chlorsilber

= 1,065 g ‰ Cl auf frisches,
= 0,5278 g % Cl auf trockenes Fleisch bezogen.

II. Stierfleisch.

Glatte Muskeln (Retractor penis). Die für diese Bestimmung gebrauchten Muskeln wurden von uns selbst im Schlachthaus entnommen. Die Muskeln wurden sorgfältig präpariert.

152,77 g frisches Fleisch gaben 31,19 g Trockensubstanz.

Feste Stoffe (110 bis 112°) auf 100 Teile frisches Fleisch = 20,41 g,
Wasser „ 100 „ „ „ = 79,59 g.

Alkalien I. 16,817 g trockenes Fleisch aus 82,37 g frischem Fleisch gaben 0,6424 g Alkalichloride und 1,368 g Kaliumplatinchlorid

= 0,2194 g K = 2,663 ‰ K } bezogen auf
= 0,2642 g K_2O = 3,208 ‰ K_2O } frisches Fleisch,
= 1,3046 g % K } bezogen auf trockenes Fleisch,
= 1,571 g % K_2O }
= 0,0921 g Na = 1,118 ‰ Na } bezogen auf
= 0,1241 g Na_2O = 1,507 ‰ Na_2O } frisches Fleisch,
= 0,548 g % Na } bezogen auf trockenes Fleisch.
= 0,7382 g % Na_2O }

Alkalien II. 16,817 g trockenes Fleisch aus 82,37 g frischem Fleisch gaben 0,6424 g Alkalichloride und 1,371 g Kaliumplatinchlorid

= 0,2198 g K = 2,669 ‰ K } bezogen auf
= 0,2648 g K_2O = 3,215 ‰ K_2O } frisches Fleisch,
= 1,307 g % K } bezogen auf trockenes Fleisch,
= 1,574 g % K_2O }
= 0,088 g Na = 1,068 ‰ Na } bezogen auf
= 0,1185 g Na_2O = 1,439 ‰ Na_2O } frisches Fleisch,
= 0,5234 g % Na } bezogen auf trockenes Fleisch.
= 0,705 g % Na_2O }

Chlor I. 5,0393 g trockenes Fleisch aus 24,68 g frischem Fleisch lieferten 0,1262 g Chlorsilber

= 1,264 g ‰ Cl auf frisches,
= 0,6192 g % Cl auf trockenes Fleisch bezogen.

Chlor II. 4,776 g trockenes Fleisch aus 23,39 g frischem Fleisch lieferten 0,1219 g Chlorsilber

= 1,288 g ‰ Cl auf frisches,
= 0,631 g % Cl auf trockenes Fleisch bezogen.

III. Kuhfleisch.

Glatte Muskeln (Uterus). Die für diese Bestimmung gebrauchten Muskeln wurden von uns selbst im Schlachthaus entnommen.

72,29 g frisches Fleisch gaben 13,25 g Trockensubstanz.

Feste Stoffe (110 bis 112°) auf 100 Teile frisches Fleisch = 18,33 g,
Wasser „ 100 „ „ „ = 81,67 g.

Alkalien I. 9,0441 g trockenes Fleisch aus 49,34 g frischem Fleisch gaben 0,4040 g Alkalichloride und 0,6885 g Kaliumplatinchlorid

= 0,1104 g K = 2,238 ‰ K } bezogen auf
= 0,1329 g K_2O = 2,695 ‰ K_2O } frisches Fleisch,
= 1,221 g % K } bezogen auf trockenes Fleisch.
= 1,47 g % K_2O }
= 0,0763 g Na = 1,546 ‰ Na } bezogen auf
= 0,1027 g Na_2O = 2,082 ‰ Na_2O } frisches Fleisch,
= 0,8434 g % Na } bezogen auf frisches Fleisch.
= 1,136 g % Na_2O }

Alkalien II. 9,0441 g trockenes Fleisch aus 49,34 g frischem Fleisch gaben 0,4040 g Alkalichloride und 0,6940 g Kaliumplatinchlorid

= 0,1113 g K = 2,257 ‰ K } bezogen auf
= 0,1340 g K_2O = 2,717 ‰ K_2O } frisches Fleisch,
= 1,231 g % K } bezogen auf trockenes Fleisch,
= 1,482 g % K_2O }
= 0,0756 g Na = 1,532 ‰ Na } bezogen auf
= 0,1018 g Na_2O = 2,05 ‰ Na_2O } frisches Fleisch,
= 0,836 g % Na } bezogen auf frisches Fleisch.
= 1,126 g % Na_2O }

Chlor. 3,3026 g trockenes Fleisch aus 18,02 g frischem Fleisch lieferten 0,0807 g Chlorsilber

= 1,107 g ‰ Cl auf frisches,
= 0,6041 g % Cl auf trockenes Fleisch bezogen.

IV. Büffelfleisch.

Glatte Muskeln (Retractor penis). Die Muskeln für diese Bestimmung wurden von uns selbst im Schlachthaus entnommen.

57,49 g frisches Fleisch gaben 11,91 g Trockensubstanz.

Feste Stoffe (110 bis 112°) auf 100 Teile frisches Fleisch = 19,98 g,
Wasser „ 100 „ „ „ = 81,02 g.

Alkalien I. 7,692 g trockenes Fleisch aus 37,13 g frischem Fleisch gaben 0,3287 g Alkalichloride und 0,6070 g Kaliumchlorid

= 0,0973 g K = 2,622 ‰ K } bezogen auf
= 0,1172 g K_2O = 3,158 % K_2O } frisches Fleisch,
= 1,266 g % K } bezogen auf trockenes Fleisch,
= 1,5245 g % K_2O }
= 0,0564 g Na = 1,52 ‰ Na } bezogen auf
= 0,076 g Na_2O = 2,047 ‰ Na_2O } frisches Fleisch,
= 0,7335 g % Na } bezogen auf trockenes Fleisch.
= 0,9881 g % Na_2O }

Alkalien II. 7,692 g trockenes Fleisch aus 37,13 g frischem Fleisch gaben 0,3287 g Alkalichloride und 0,610 g Kaliumplatinchlorid

= 0,0978 g K = 2,635 ‰ K } bezogen auf
= 0,1178 g K_2O = 3,174 ‰ K_2O } frisches Fleisch,
= 1,272 g % K } bezogen auf trockenes Fleisch,
= 1,532 g % K_2O } bezogen auf trockenes Fleisch,
= 0,0559 g Na = 1,506 ‰ Na } bezogen auf
= 0,0753 g Na_2O = 2,029 ‰ Na_2O } frisches Fleisch,
= 0,7269 g % Na } bezogen auf trockenes Fleisch.
= 0,9791 g % Na_2O } bezogen auf trockenes Fleisch.

Chlor I. 3,816 g trockenes Fleisch aus 18,42 g frischem Fleisch lieferten 0,0743 g Chlorsilber

= 0,9973 g ‰ Cl auf frisches,
= 0,4814 g % Cl auf trockenes Fleisch bezogen.

Chlor II. 3,270 g trockenes Fleisch aus 15,78 g frischem Fleisch lieferten 0,0692 g Chlorsilber

= 1,084 g ‰ Cl auf frisches,
= 0,5232 g % Cl auf trockenes Fleisch bezogen.

V. Pferdefleisch.

Glatte Muskeln (Retractor penis). Die Muskeln für diese Bestimmung wurden von uns selbst im Schlachthaus entnommen.

19,70 g frisches Fleisch gaben 4,21 g Trockensubstanz.

Feste Stoffe (110 bis 112°) auf 100 Teile frisches Fleisch = 21,27 g,
Wasser „ 100 „ „ „ = 78,73 g.

Chlor. 3,7502 g trockenes Fleisch aus 17,55 g frischem Fleisch lieferten 0,0693 g Chlorsilber

= 0,9764 g ‰ Cl auf frisches,
= 0,4569 g % Cl auf trockenes Fleisch bezogen.

VI. Schweinefleisch.

Glatte Muskeln (Retractor penis). Die Muskeln für diese Bestimmung wurden von uns selbst im Schlachthaus entnommen.

8,30 g frisches Fleisch gaben 1,71 g Trockensubstanz

Feste Stoffe (110 bis 112°) auf 100 Teile frisches Fleisch = 20,60 g
Wasser „ 100 „ „ „ = 79,40 g.

Chlor. 4,948 g trockenes Fleisch aus 24,02 g frischem Fleisch lieferten 0,1262 g Chlorsilber

= 1,299 g ‰ Cl auf frisches,
= 0,6306 g % Cl auf trockenes Fleisch bezogen.

VII. Stierfleisch.

Quergestreifte Muskeln. Die Muskeln für diese Bestimmung wurden von uns selbst im Schlachthaus entnommen.

36,64 g frisches Fleisch gaben 8,19 g Trockensubstanz.

Feste Stoffe (110 bis 112°) auf 100 Teile frisches Fleisch = 22,35 g,
Wasser „ 100 „ „ „ = 77,65 g.

Chlor. 9,5676 g trockenes Fleisch aus 42,80 g frischem Fleisch lieferten 0,0428 g Chlorsilber

= 0,2472 g ‰ Cl auf frisches,
= 0,1106 g % Cl auf trockenes Fleisch bezogen.

VIII. Kuhfleisch.

Quergestreifte Muskeln. Die Muskeln wurden von uns selbst im Schlachthaus entnommen.

26,08 g frische Muskeln gaben 6,33 g Trockensubstanz.

Feste Stoffe (110 bis 112°) auf 100 Teile frisches Fleisch = 24,27 g,
Wasser „ 100 „ „ „ = 75,73 g.

Chlor. 6,0144 g trockenes Fleisch aus 24,78 g frischem Fleisch lieferten 0,0305 g Chlorsilber

= 0,3043 g ‰ Cl auf frisches,
= 0,1254 g % Cl auf trockenes Fleisch bezogen.

IX. Büffelkuhfleisch.

Quergestreifte Muskeln. Die Muskeln wurden von uns selbst im Schlachthaus entnommen.

99,53 g frisches Fleisch gaben 23,37 g Trockensubstanz.

Feste Stoffe (110 bis 112°) auf 100 Teile frisches Fleisch = 23,48 g,
Wasser „ 100 „ „ „ = 76,52 g.

Chlor. 4,8895 g trockenes Fleisch aus 20,82 g frischem Fleisch lieferten 0,0394 g Chlorsilber

= 0,4678 g ‰ Cl auf frisches,
= 0,1992 g % Cl auf trockenes Fleisch bezogen.

X. Pferdefleisch.

Quergestreifte Muskeln. Die Muskeln wurden von uns im Schlachthaus entnommen.

240,03 g frisches Fleisch gaben 58,78 g Trockensubstanz.

Feste Stoffe (110 bis 112°) auf 100 Teile frisches Fleisch = 23,89 g,
Wasser „ 100 „ „ „ = 76,11 g.

Chlor. 8,3904 g trockenes Fleisch aus 35,12 g frischem Fleisch lieferten 0,0452 g Chlorsilber

= 0,3182 g ‰ Cl auf frisches,
= 0,1332 g % Cl auf trockenes Fleisch bezogen.

XI. Kaninchenfleisch.

Quergestreifte Muskeln (rote). Die für diese Bestimmung gebrauchten Muskeln wurden nach dem vollständigen Verbluten des Tieres sorgfältig präpariert. Die verwendete Substanz stammte von 3 Tieren.

51,67 g frisches Fleisch gaben 12,95 g Trockensubstanz.

Feste Stoffe (110 bis 112°) auf 100 Teile frisches Fleisch = 25,06 g
Wasser „ 100 „ „ „ = 74,94 g

Alkalien I. 8,030 g trockenes Fleisch gaben 0,3118 g Alkalichloride und 0,8625 g Kaliumplatinchlorid

= 0,1383 g K = 4,219 ‰ K } bezogen auf
= 0,1666 g K_2O = 5,199 ‰ K_2O } frisches Fleisch,
= 1,722 g % K } bezogen auf trockenes Fleisch,
= 2,074 g % K_2O }
= 0,019 g Na = 0,5927 ‰ Na } bezogen auf
= 0,0256 g Na_2O = 0,8003 ‰ Na_2O } frisches Fleisch,
= 0,2365 g % Na } bezogen auf trockenes Fleisch.
= 0,3186 g % Na_2O }

Alkalien II. 8,030 g trockenes Fleisch aus 32,04 g frischem Fleisch gaben 0,3118 g Alkalichloride und 0,8655 g Kaliumplatinchlorid

= 0,1388 g K = 4,332 ‰ K } bezogen auf
= 0,1671 g K_2O = 5,217 ‰ K_2O } frisches Fleisch,
= 1,728 g % K } bezogen auf trockenes Fleisch,
= 2,081 g % K_2O }
= 0,0186 g Na = 0,5816 ‰ Na } bezogen auf
= 0,0251 g Na_2O = 0,7835 ‰ Na_2O } frisches Fleisch,
= 0,2321 g % Na } bezogen auf trockenes Fleisch.
= 0,3126 g % Na_2O }

Chlor I. 7,550 g trockenes Fleisch aus 30,12 g frischem Fleisch lieferten 0,0372 g Chlorsilber

= 0,3053 g ‰ Cl auf frisches,
= 0,1218 g % Cl auf trockenes Fleisch bezogen.

Chlor II. 8,8110 g trockenes Fleisch = 35,16 g frisches Fleisch lieferten 0,0386 g Chlorsilber

= 0,2715 g ‰ Cl auf frisches,
= 0,1083 g % Cl auf trockenes Fleisch bezogen.

XII. Kaninchenfleisch.

Quergestreifte Muskeln (weiße). Die für diese Bestimmung gebrauchten Muskeln wurden nach dem vollständigen Verbluten des Tieres sorgfältig präpariert.

138,88 g frische Muskeln gaben 34,86 g Trockensubstanz.

Feste Stoffe (110 bis 112°) auf 100 Teile frische Muskeln = 25,05 g,
Wasser „ 100 „ „ „ = 74,95 g.

Alkalien I. 14,808 g trockenes Fleisch aus 59,13 g frischem Fleisch gaben 0,4946 g Alkalichloride und 1,407 g Kaliumplatinchlorid

= 0,2256 g K = 3,816 ‰ K } bezogen auf
= 0,2717 g K_2O = 4,595 ‰ K_2O } frisches Fleisch,
= 1,5238 g % K } bezogen auf trockenes Fleisch,
= 1,835 g % K_2O }

= 0,0254 g Na = 0,4304 ‰ Na } bezogen auf
= 0,0342 g Na_2O = 0,5798 ‰ Na_2O } frisches Fleisch,
= 0,1718 g % Na } bezogen auf trockenes Fleisch.
= 0,2315 g % Na_2O }

Alkalien II. 14,808 g trockenes Fleisch aus 59,13 g frischem Fleisch gaben 0,4946 g Alkalichloride und 1,397 g Kaliumplatinchlorid

= 0,224 g K = 3,789 ‰ K } bezogen auf
= 0,2698 g K_2O = 4,563 ‰ K_2O } frisches Fleisch,
= 1,513 g % K } bezogen auf trockenes Fleisch,
= 1,780 g % K_2O }
= 0,0266 g Na = 0,4511 ‰ Na } bezogen auf
= 0,0359 g Na_2O = 0,6076 ‰ Na_2O } frisches Fleisch,
= 0,1801 g % Na } bezogen auf trockenes Fleisch.
= 0,2426 g % Na_2O }

Chlor. 9,4542 g trockenes Fleisch lieferten 0,040 g Chlorsilber
= 0,2621 g ‰ Cl auf frisches,
= 0,1046 g % auf trockenes Fleisch bezogen.

XIII. Hündinnenfleisch.

Quergestreifte Muskeln. Die Muskeln wurden nach dem vollständigen Verbluten des Tieres sorgfältig präpariert. Die gebrauchte Substanz stammte von 4 Tieren.

51,42 g frisches Fleisch gaben 12,96 g Trockensubstanz.
Feste Stoffe (110 bis 112°) auf 100 Teile frisches Fleisch = 25,20 g,
Wasser „ 100 „ „ „ = 74,80 g.

Alkalien I. 9,863 g trockenes Fleisch aus 39,13 g frischem Fleisch gaben 0,2906 g Alkalichloride und 0,7915 g Kaliumplatinchlorid

= 0,1269 g K = 3,243 ‰ K } bezogen auf
= 0,1528 g K_2O = 3,906 ‰ K_2O } frisches Fleisch,
= 1,287 g % K } bezogen auf trockenes Fleisch,
= 1,550 g % K_2O }
= 0,0192 g Na = 0,490 ‰ Na } bezogen auf
= 0,0258 g Na_2O = 0,660 ‰ Na_2O } frisches Fleisch,
= 0,1945 g % Na } bezogen auf trockenes Fleisch.
= 0,2620 g % Na_2O }

Alkalien II. 9,863 g trockenes Fleisch gaben 0,2906 g Alkalichloride und 0,7945 Kaliumplatinchlorid

= 0,1274 g K = 3,256 ‰ K } bezogen auf
= 0,1534 g K_2O = 3,921 % K_2O } frisches Fleisch,
= 1,293 g % K } bezogen auf trockenes Fleisch,
= 1,555 g % K_2O }
= 0,0188 g Na = 0,481 ‰ Na } bezogen auf
= 0,0253 g Na_2O = 0,648 ‰ Na_2O } frisches Fleisch,
= 0,191 g % Na } bezogen auf trockenes Fleisch.
= 0,2572 g % Na_2O }

Chlor I. 7,6962 g trockenes Fleisch aus 30,44 g frischem Fleisch lieferten 0,0318 g Chlorsilber

= 0,258 g ‰ Cl auf frisches,
= 0,1024 g % Cl auf trockenes Fleisch bezogen.

Chlor II. 7,4490 g trockenes Fleisch aus 29,56 g frischem Fleisch lieferten 0,0356 g Chlorsilber

= 0,2978 g ‰ Cl auf frisches,
= 0,1181 g % Cl auf trockenes Fleisch bezogen.

XIV. Hahnenfleisch.

Glatte Muskeln (Magen). Die Muskeln wurden sorgfältig präpariert. Die gebrauchte Substanz stammte von 32 Tieren.

49,82 g frisches Fleisch gaben 10,59 g Trockensubstanz.

Feste Stoffe (110 bis 112°) auf 100 Teile frisches Fleisch = 21,25 g,
Wasser „ 100 „ „ „ = 78,75 g.

Alkalien I. 13,653 g trockenes Fleisch aus 64,42 g frisches Fleisch gaben 0,5536 Alkalichloride und 1,429 g Kaliumplatinchlorid

= 0,2297 g $K = 3{,}557$ ‰ K
= 0,276 g $K_2O = 4{,}284$ ‰ K_2O } bezogen auf frisches Fleisch,
= 1,678 g % K
= 2,021 g % K_2O } bezogen auf trockenes Fleisch,
= 0,0467 g $Na = 0{,}726$ ‰ Na
= 0,0630 g $Na_2O = 0{,}978$ ‰ Na_2O } bezogen auf frisches Fleisch,
= 0,3425 g % Na
= 0,4614 g % Na_2O } bezogen auf trockenes Fleisch.

Alkalien II. 13,653 g trockenes Fleisch aus 64,42 g frischem Fleisch gaben 0,5536 g Alkalichloride und 1,435 g Kaliumplatinchlorid

= 0,2302 g $K = 3{,}572$ ‰ K
= 0,2771 g $K_2O = 4{,}302$ ‰ K_2O } bezogen auf frisches Fleisch,
= 1,685 g % K
= 2,030 g % K_2O } bezogen auf trockenes Fleisch,
= 0,0453 g $Na = 0{,}704$ ‰ Na
= 0,0610 g $Na_2O = 0{,}949$ ‰ Na_2O } bezogen auf frisches Fleisch,
= 0,332 g % Na
= 0,447 g % Na_2O } bezogen auf trockenes Fleisch.

Chlor I. 4,6484 g trockenes Fleisch aus 21,87 g frischem Fleisch lieferten 0,0717 g Chlorsilber

= 0,8107 g ‰ Cl auf frisches,
= 0,3814 g % auf trockenes Fleisch bezogen.

Chlor II. 3,5332 g trockenes Fleisch aus 16,62 g frischem Fleisch lieferten 0,0580 g Chlorsilber

= 0,8628 g ‰ Cl auf frisches,
= 0,4059 g % Cl auf trockenes Fleisch bezogen.

XV. Hennenfleisch.

Quergestreifte Muskeln (rote). Die Muskeln wurden nach dem vollständigen Verbluten des Tieres sorgfältig präpariert.

82,11 g frisches Fleisch gaben 20,19 g Trockensubstanz.

Feste Stoffe (110 bis 112°) auf 100 Teile frisches Fleisch = 24,59 g,
Wasser „ 100 „ „ „ = 75,41 g.

Alkalien I. 8,292 g trockenes Fleisch aus 33,72 g frischem Fleisch gaben 0,3055 g Alkalichloride und 0,7765 g Kaliumplatinchlorid

= 0,1245 g K = 3,693 ‰ K } bezogen auf
= 0,150 g K_2O = 4,447 ‰ K_2O } frisches Fleisch,
= 1,502 g % K } bezogen auf trockenes Fleisch,
= 1,808 g % K_2O } bezogen auf trockenes Fleisch,
= 0,0268 g Na = 0,7968 ‰ Na } bezogen auf
= 0,0353 g Na_2O = 1,049 ‰ Na_2O } frisches Fleisch,
= 0,324 g % Na } bezogen auf trockenes Fleisch.
= 0,4266 g % Na_2O } bezogen auf trockenes Fleisch.

Alkalien II. 8,292 g trockenes Fleisch aus 33,72 g frischem Fleisch gaben 0,3055 g Alkalichloride und 0,7920 g Kaliumplatinchlorid

= 0,1273 g K = 3,775 ‰ K } bezogen auf
= 0,1529 g K_2O = 4,536 ‰ K_2O } frisches Fleisch,
= 1,536 g % K } bezogen auf trockenes Fleisch,
= 1,844 g % K_2O } bezogen auf trockenes Fleisch,
= 0,0250 g Na = 0,742 ‰ K } bezogen auf
= 0,0329 g Na_2O = 0,9767 ‰ Na_2O } frisches Fleisch,
= 0,3017 g % Na } bezogen auf trockenes Fleisch.
= 0,3973 g % Na_2O } bezogen auf trockenes Fleisch.

Chlor I. 7,488 g trockenes Fleisch aus 30,44 g frischem Fleisch lieferten 0,0360 g Chlorsilber

= 0,2923 g ‰ Cl auf frisches,
= 0,1189 g % Cl auf trockenes Fleisch bezogen.

Chlor II. 9,008 g trockenes Fleisch aus 36,62 g frischem Fleisch lieferten 0,0540 g Chlorsilber

= 0,3644 g ‰ Cl auf frisches,
= 0,1482 g % Cl auf trockenes Fleisch bezogen.

XVI. Hennenfleisch.

Quergestreifte Muskeln (weiße). Die Muskeln wurden nach dem vollständigen Verbluten des Tieres sorgfältig präpariert.

119,19 g frisches Fleisch gaben 31,97 g Trockensubstanz.

Feste Stoffe (110 bis 112°) auf 100 Teile frisches Fleisch = 26,82 g,
Wasser „ 100 „ „ „ = 73,18 g.

Alkalien I. 7,356 g trockenes Fleisch aus 27,42 g frischem Fleisch gaben 0,2761 g Alkalichloride und 0,7010 g Kaliumplatinchlorid

= 0,1124 g K = 4,10 ‰ K } bezogen auf
= 0,1353 g K_2O = 4,936 ‰ K_2O } frisches Fleisch,
= 1,5284 g % K } bezogen auf trockenes Fleisch,
= 1,8403 g % K_2O } bezogen auf trockenes Fleisch,
= 0,0244 g Na = 0,8893 ‰ Na } bezogen auf
= 0,0328 g Na_2O = 1,198 ‰ Na_2O } frisches Fleisch,
= 0,3315 g % Na } bezogen auf trockenes Fleisch.
= 0,4466 g % Na_2O } bezogen auf trockenes Fleisch.

Alkalien II. 7,356 g trockenes Fleisch aus 27,42 g frischem Fleisch gaben 0,2761 g Alkalichloride und 0,7008 g Kaliumplatinchlorid

= 0,1124 g K = 4,098 ‰ K } bezogen auf
= 0,1353 g K_2O = 4,935 ‰ K_2O } frisches Fleisch,
= 1,528 g % K } bezogen auf trockenes Fleisch,
= 1,840 g % K_2O } bezogen auf trockenes Fleisch,
= 0,0244 g Na = 0,8907 ‰ Na } bezogen auf
= 0,0329 g Na_2O = 1,200 ‰ Na_2O } frisches Fleisch,
= 0,3321 g % Na } bezogen auf trockenes Fleisch.
= 0,4473 g % Na_2O } bezogen auf trockenes Fleisch.

Chlor I. 9,969 g trockenes Fleisch aus 37,17 g frischem Fleisch lieferten 0,0360 g Chlorsilber

= 0,2395 g ‰ Cl auf frisches,
= 0,0893 g % Cl auf trockenes Fleisch bezogen.

Chlor II. 8,2852 g trockenes Fleisch aus 30,88 g frischem Fleisch lieferten 0,0340 g Chlorsilber

= 0,2721 g ‰ Cl auf frisches,
= 0,1014 g % Cl auf trockenes Fleisch bezogen.

XVII. Truthahnfleisch.

Glatte Muskeln (Magen). Die Muskeln wurden sorgfältig präpariert. Die gebrauchte Substanz stammte von 7 Tieren.

317 g frische Muskeln gaben 73 g Trockensubstanz.

Feste Stoffe (110 bis 112°) auf 100 Teile frisches Fleisch = 23,03 g,
Wasser „ 100 „ „ „ = 76,97 g.

Alkalien I. 10,426 g trockenes Fleisch gaben 0,4766 g Alkalichloride und 1,281 g Kaliumplatinchlorid

= 0,2054 g K = 4,537 ‰ K } bezogen auf
= 0,2474 g K_2O = 5,464 ‰ K_2O } frisches Fleisch,
= 1,9703 g % K } bezogen auf trockenes Fleisch,
= 2,373 g % K_2O } bezogen auf trockenes Fleisch,
= 0,0335 g Na = 0,7405 ‰ Na } bezogen auf
= 0,0451 g Na_2O = 0,9975 ‰ Na_2O } frisches Fleisch,
= 0,3208 g % Na } bezogen auf trockenes Fleisch.
= 0,4333 g % Na_2O } bezogen auf trockenes Fleisch.

Alkalien II. 10,426 g trockenes Fleisch aus 45,28 g frischem Fleisch gaben 0,4766 g Alkalichloride und 1,2891 g Kaliumplatinchlorid

= 0,2067 g K = 4,565 ‰ K } bezogen auf
= 0,2489 g K_2O = 5,498 ‰ K_2O } frisches Fleisch,
= 1,9826 g % K } bezogen auf trockenes Fleisch,
= 2,3874 g % K_2O } bezogen auf trockenes Fleisch,
= 0,0326 g Na = 0,7197 ‰ Na } bezogen auf
= 0,0439 g Na_2O = 0,9694 ‰ Na_2O } frisches Fleisch,
= 0,3125 g % Na } bezogen auf trockenes Fleisch.
= 0,4208 g % Na_2O } bezogen auf trockenes Fleisch.

Chlor I. 5,9636 g trockenes Fleisch aus 25,89 g frischem Fleisch lieferten 0,0934 g Chlorsilber

= 0,8917 g ‰ Cl auf frisches,
= 0,3872 g % Cl auf trockenes Fleisch bezogen.

Chlor II. 4,1334 g trockenes Fleisch aus 17,99 g frischem Fleisch lieferten 0,0640 g Chlorsilber

= 0,8795 g ‰ Cl auf frisches,
= 0,383 g % Cl auf trockenes Fleisch bezogen.

XVIII. Truthennenfleisch.

Quergestreifte Muskeln (rote). Die Muskeln wurden nach dem vollständigen Verbluten sorgfältig präpariert.

182,25 g frisches Fleisch gaben 47,65 g Trockensubstanz.

Feste Stoffe (110 bis 112°) auf 100 Teile frisches Fleisch = 26,14 g,
Wasser „ 100 „ „ „ = 73,86 g.

Alkalien I. 13,92 g trockenes Fleisch aus 52,03 g frischem Fleisch gaben 0,4485 g Alkalichloride und 1,2007 g Kaliumplatinchlorid

= 0,1926 g K = 3,617 ‰ K } bezogen auf
= 0,2318 g K_2O = 4,355 ‰ K_2O } frisches Fleisch,
= 1,3833 g % K } bezogen auf trockenes Fleisch,
= 1,6653 g % K_2O } bezogen auf trockenes Fleisch,
= 0,0321 g Na = 0,6039 ‰ Na } bezogen auf
= 0,0433 g Na_2O = 0,8134 ‰ Na_2O } frisches Fleisch,
= 0,2309 g % Na } bezogen auf trockenes Fleisch.
= 0,3111 g % Na_2O } bezogen auf trockenes Fleisch.

Alkalien II. 13,92 g trockenes Fleisch aus 52,03 g frischem Fleisch gaben 0,4485 g Alkalichloride und 1,2061 g Kaliumplatinchlorid

= 0,1934 g K = 3,633 ‰ K } bezogen auf
= 0,2329 g K_2O = 4,374 ‰ K_2O } frisches Fleisch,
= 1,3898 g % K } bezogen auf trockenes Fleisch,
= 1,673 g % K_2O } bezogen auf trockenes Fleisch,
= 0,0315 g Na = 0,5913 ‰ Na } bezogen auf
= 0,0424 g Na_2O = 0,7965 ‰ Na_2O } frisches Fleisch,
= 0,2261 g % Na } bezogen auf trockenes Fleisch.
= 0,3046 g % Na_2O } bezogen auf trockenes Fleisch.

Chlor I. 11,654 g trockenes Fleisch aus 44,52 g frischem Fleisch lieferten 0,0472 g Chlorsilber

= 0,2621 g ‰ Cl auf frisches,
= 0,1002 g % Cl auf trockenes Fleisch bezogen.

Chlor II. 8,476 g trockenes Fleisch aus 32,42 g frischem Fleisch lieferten 0,0390 g Chlorsilber

= 0,2974 g ‰ Cl auf frisches,
= 0,1137 g % Cl auf trockenes Fleisch bezogen.

XIX. Truthennenfleisch.

Quergestreifte Muskeln (weiße). Die Muskeln wurden nach dem vollständigen Verbluten sorgfältig präpariert.

218,08 g frisches Fleisch gaben 59,82 g Trockensubstanz.

Feste Stoffe (110 bis 112°) auf 100 Teile frisches Fleisch = 27,43 g,
Wasser „ 100 „ „ „ = 72,57 g.

Alkalien I. 14,24 g trockenes Fleisch aus 51,91 g frischem Fleisch gaben 0,4222 g Alkalichloride und 1,1978 g Kaliumplatinchlorid

= 0,1921 g K = 3,70 ‰ K
= 0,2313 g K_2O = 4,457 ‰ K_2O } bezogen auf frisches Fleisch,
= 1,349 g % K
= 1,624 g % K_2O } bezogen auf trockenes Fleisch,
= 0,0221 g Na = 0,425 ‰ Na
= 0,0297 g Na_2O = 0,573 ‰ Na_2O } bezogen auf frisches Fleisch,
= 0,1552 g % Na
= 0,2091 g % Na_2O } bezogen auf trockenes Fleisch.

Alkalien II. 14,24 g trockenes Fleisch aus 51,91 g frischem Fleisch gaben 0,4222 g Alkalichloride und 1,200 g Trockensubstanz.

= 0,1924 g K = 3,707 ‰ K
= 0,2317 g K_2O = 4,465 ‰ K_2O } bezogen auf frisches Fleisch,
= 1,351 g % K
= 1,627 g % K_2O } bezogen auf trockenes Fleisch,
= 0,0218 g Na = 0,421 ‰ Na
= 0,0294 g Na_2O = 0,567 ‰ Na_2O } bezogen auf frisches Fleisch,
= 0,1535 g % Na
= 0,2068 g % Na_2O } bezogen auf trockenes Fleisch.

Chlor. 10,788 g trockenes Fleisch aus 39,32 g frischem Fleisch lieferten 0,0732 g Chlorsilber

= 0,3344 g ‰ Cl auf frisches,
= 0,1219 g % Cl auf trockenes Fleisch bezogen.

IV. Tabellen.

In den folgenden Tabellen sind die Resultate der von mir ausgeführten Analysen zusammengestellt.

Tabelle I.

K-Gehalt auf 100 Teile trockenes Fleisch.

	Stierfleisch		Kuhfleisch	Büffelfleisch	Kaninchenfleisch		Hündinfleisch	Hahnenfleisch			Truthahnfleisch		
	Muskeln Glatte		Muskeln Glatte	Muskeln Glatte	Muskeln Quergestreifte		Muskeln Quergestreifte	Muskeln			Muskeln		
	Magen	Retractor penis	Uterus	Retractor penis	rote	weiße	Schenkel	Magen	rote	weiße	Magen	rote	weiße
I	1,82	1,3046	1,221	1,266	1,722	1,5238	1,287	1,678	1,502	1,5284	1,9703	1,3833	1,349
II	1,801	1,307	1,231	1,272	1,728	1,513	1,293	1,685	1,536	1,528	1,9826	1,3898	1,351
Mittel	1,8105	1,3058	1,226	1,269	1,725	1,5184	1,290	1,681	1,519	1,5282	1,9764	1,3865	1,350

Tabelle II.

K_2O-Gehalt auf 100 Teile trockenes Fleisch.

	Stierfleisch		Kuhfleisch	Büffelfleisch	Kaninchenfleisch		Hündinfleisch	Hahnenfleisch			Truthahnfleisch		
	Muskeln Glatte		Muskeln Glatte	Muskeln Glatte	Muskeln Quergestreifte		Muskeln Quergestreifte	Muskeln			Muskeln		
	Magen	Retractor penis	Uterus	Retractor penis	rote	weiße	Schenkel	Magen	rote	weiße	Magen	rote	weiße
I	2,191	1,571	1,47	1,5245	2,074	1,835	1,55	2,021	1,808	1,8403	2,373	1,6653	1,624
II	2,169	1,574	1,482	1,532	2,081	1,780	1,555	2,03	1,844	1,840	2,3874	1,673	1,627
Mittel	2,180	1,572	1,476	1,528	2,077	1,807	1,552	2,025	1,826	1,8401	2,38	1,669	1,625

Tabelle III.

Na-Gehalt auf 100 Teile trockenes Fleisch.

	Stierfleisch		Kuhfleisch	Büffelfleisch	Kaninchenfleisch		Hündinfleisch	Hahnenfleisch			Truthahnfleisch		
	Muskeln Glatte		Muskeln Glatte	Muskeln Glatte	Muskeln Quergestreifte		Muskeln Quergestreifte	Muskeln			Muskeln		
	Magen	Retractor penis	Uterus	Retractor penis	rote	weiße	Schenkel	Magen	rote	weiße	Magen	rote	weiße
I	0,4322	0,548	0,8434	0,7335	0,2365	0,1718	0,1945	0,3425	0,324	0,3315	0,3208	0,2309	0,1552
II	0,4462	0,5234	0,836	0,7269	0,2321	0,1801	0,191	0,332	0,3017	0,3321	0,3125	0,2261	0,1535
Mittel	0,4392	0,5357	0,8397	0,7302	0,2343	0,1759	0,1927	0,3372	0,3128	0,3318	0,3166	0,2285	0,1543

Tabelle IV.

Na_2O-Gehalt auf 100 Teile trockenes Fleisch.

	Stierfleisch		Kuhfleisch	Büffelfleisch	Kaninchenfleisch		Hündinfleisch	Hahnenfleisch			Truthahnfleisch		
	Muskeln Glatte		Muskeln Glatte	Muskeln Glatte	Muskeln Quergestreifte		Muskeln Quergestreifte	Muskeln			Muskeln		
	Magen	Retractor penis	Uterus	Retractor penis	rote	weiße	Schenkel	Magen	rote	weiße	Magen	rote	weiße
I	0,5822	0,7382	1,136	0,9881	0,3186	0,2315	0,2620	0,4614	0,4266	0,4466	0,4333	0,3111	0,2091
II	0,601	0,705	1,126	0,9791	0,3126	0,2426	0,2572	0,447	0,3973	0,4473	0,4208	0,3046	0,2068
Mittel	0,5916	0,7216	1,131	0,9836	0,3156	0,2370	0,2596	0,4542	0,4119	0,4469	0,4270	0,3078	0,2079

Tabelle V.

K-Gehalt auf 1000 Teile frisches Fleisch.

	Stierfleisch		Kuhfleisch	Büffelfleisch	Kaninchenfleisch		Hündinfleisch	Hennenfleisch			Truthennenfleisch		
	Muskeln		Muskeln	Muskeln	Muskeln		Muskeln	Muskeln			Muskeln		
	Glatte		Glatte	Glatte	Quergestreifte		Quergestreifte	Glatte	Quergestreifte		Glatte	Quergestreifte	
	Magen	Retractor penis	Uterus	Retractor penis	rote	weiße	Schenkel	Magen	rote	weiße	Magen	rote	weiße
I	3,674	2,663	2,238	2,622	4,219	3,816	3,243	3,557	3,693	4,10	4,537	3,617	3,70
II	3,637	2,669	2,257	2,635	4,332	3,789	3,256	3,572	3,775	4,098	4,565	3,633	3,707
Mittel	3,655	2,666	2,247	2,628	4,275	3,802	3,249	3,564	3,734	4,099	4,551	3,625	3,703

Tabelle VI.

K_2O-Gehalt auf 1000 Teile frisches Fleisch.

	Stierfleisch		Kuhfleisch	Büffelfleisch	Kaninchenfleisch		Hündinfleisch	Hahnenfleisch			Truthahnfleisch		
	Muskeln		Muskeln	Muskeln	Muskeln		Muskeln	Muskeln			Muskeln		
	Glatte		Glatte	Glatte	Quergestreifte		Quergestreifte	Glatte	Quergestreifte		Glatte	Quergestreifte	
	Magen	Retractor penis	Uterus	Retractor penis	rote	weiße	Schenkel	Magen	rote	weiße	Magen	rote	weiße
I	4,425	3,208	2,695	3,158	5,199	4,595	3,906	4,284	4,447	4,936	5,464	4,355	4,457
II	4,381	3,215	2,717	3,174	5,217	4,563	3,921	4,302	4,536	4,935	5,498	4,374	4,465
Mittel	4,403	3,211	2,706	3,166	5,208	4,579	3,913	4,293	4,491	4,935	5,481	4,364	4,461

Tabelle VII.

Na-Gehalt auf 1000 Teile frisches Fleisch.

	Stierfleisch		Kuhfleisch	Büffelfleisch	Kaninchenfleisch		Hündinfleisch	Hahnenfleisch			Truthahnfleisch		
	Muskeln		Muskeln	Muskeln	Muskeln		Muskeln	Muskeln			Muskeln		
	Glatte		Glatte	Glatte	Quergestreifte		Quergestreifte	Glatte	Quergestreifte		Glatte	Quergestreifte	
	Magen	Retractor penis	Uterus	Retractor penis	rote	weiße	Schenkel	Magen	rote	weiße	Magen	rote	weiße
I	0,8728	1,118	1,546	1,52	0,5927	0,4304	0,490	0,726	0,7968	0,8893	0,7405	0,6039	0,425
II	0,901	1,068	1,532	1,506	0,5816	0,4511	0,481	0,704	0,742	0,8907	0,7197	0,5913	0,421
Mittel	0,8869	1,093	1,539	1,513	0,5871	0,4407	0,485	0,715	0,7694	0,890	0,7301	0,5976	0,423

Tabelle VIII.

Na_2O-Gehalt auf 1000 Teile frisches Fleisch.

	Stierfleisch		Kuhfleisch	Büffelfleisch	Kaninchenfleisch		Hündinfleisch	Hahnenfleisch			Truthahnfleisch		
	Muskeln		Muskeln	Muskeln	Muskeln		Muskeln	Muskeln			Muskeln		
	Glatte		Glatte	Glatte	Quergestreifte		Quergestreifte	Glatte	Quergestreifte		Glatte	Quergestreifte	
	Magen	Retractor penis	Uterus	Retractor penis	rote	weiße	Schenkel	Magen	rote	weiße	Magen	rote	weiße
I	1,176	1,507	2,082	2,047	0,8003	0,5798	0,660	0,978	1,049	1,198	0,9975	0,8134	0,573
II	1,213	1,439	2,05	2,029	0,7835	0,6076	0,648	0,949	0,9767	1,200	0,9694	0,7965	0,567
Mittel	1,194	1,473	2,066	2,038	0,7919	0,5937	0,654	0,963	1,0128	1,199	0,9834	0,8049	0,570

Tabelle

Chlorgehalt auf 100 Teile

	Stierfleisch			Kuhfleisch		Büffelfleisch		Pferdefleisch	
	Muskeln			Muskeln		Muskeln		Muskeln	
	Glatte		Quergestreifte	Glatte	Quergestreifte	Glatte	Quergestreifte	Glatte	Quergestreifte
	Magen	Retractor penis	—	Uterus	—	Retractor penis	—	Retractor penis	—
I	0,508	0,6192	0,1106	0,6041	0,1254	0,4814	0,1992	0,4569	0,1332
II	0,5278	0,631	—	—	—	0,5232	—	—	—
Mittel	0,5179	0,6251	0,1106	0,6041	0,1254	0,5023	0,1992	0,4569	0,1332

Tabelle

Chlorgehalt auf 1000 Teile

	Stierfleisch			Kuhfleisch		Büffelfleisch		Pferdefleisch	
	Muskeln			Muskeln		Muskeln		Muskeln	
	Glatte		Quergestreifte	Glatte	Quergestreifte	Glatte	Quergestreifte	Glatte	Quergestreifte
	Magen	Retractor penis	—	Uterus	—	Retractor penis	—	Retractor penis	—
I	1,025	1,264	0,2472	1,107	0,3043	0,9973	0,4678	0,9764	0,3182
II	1,065	1,288	—	—	—	1,084	—	—	—
Mittel	1,045	1,276	0,2472	1,107	0,3043	1,0028	0,4678	0,9764	0,3182

Tabelle

Bestandteile, berechnet als Elemente und

Bestandteile	Stierfleisch			Kuhfleisch		Büffelfleisch		Pferdefleisch	
	Muskeln			Muskeln		Muskeln		Muskeln	
	Glatte		Quergestreifte	Glatte	Quergestreifte	Glatte	Quergestreifte	Glatte	Quergestreifte
	Magen	Retractor penis	—	Uterus	—	Retractor penis	—	Retractor penis	—
Feste Stoffe	20,19	20,43	22,35	18,33	24,27	19,98	23,48	21,27	23,89
H_2O	79,81	79,57	77,65	81,67	75,73	81,02	76,52	78,73	76,11
K	1,8105	1,3058	—	1,226	—	1,269	—	—	—
Na	0,4392	0,5357	—	0,8397	—	0,7302	—	—	—
K_2O	2,180	1,572	—	1,476	—	1,528	—	—	—
Na_2O	0,5916	0,7216	—	1,131	—	0,9836	—	—	—
Cl	0,5179	0,6251	0,1106	0,6041	0,1254	0,5023	0,1992	0,4569	0,1332

IX.

trockenes Fleisch.

Schweine-fleisch	Kaninchen-fleisch		Hündin-fleisch	Hahnenfleisch			Truthahnfleisch		
Muskeln	Muskeln		Muskeln	Muskeln			Muskeln		
Glatte	Quergestreifte		Quer-gestreifte	Glatte	Quergestreifte		Glatte	Quergestreifte	
Retractor penis	rote	weiße	Schenkel	Magen	rote	weiße	Magen	rote	weiße
0,6306	0,1218	0,1046	0,1024	0,3814	0,1189	0,0893	0,3872	0,1002	0,1219
—	0,1083	—	0,1181	0,4059	0,1482	0,1014	0,383	0,1137	—
0,6306	0,1150	0,1046	0,1102	0,3936	0,1335	0,0953	0,3851	0,1069	0,1219

X.

frisches Fleisch.

Schweine-fleisch	Kaninchen-fleisch		Hündin-fleisch	Hahnenfleisch			Truthahnfleisch		
Muskeln	Muskeln		Muskeln	Muskeln			Muskeln		
Glatte	Quergestreifte		Quer-gestreifte	Glatte	Quergestreifte		Glatte	Quergestreifte	
Retractor penis	rote	weiße	Schenkel	Magen	rote	weiße	Magen	rote	weiße
1,299	0,3053	0,2621	0,2581	0,8107	0,2923	0,2395	0,8917	0,2621	0,3344
—	0,2715	—	0,2978	0,8628	0,3644	0,2721	0,8795	0,2974	—
1,299	0,2884	0,2621	0,2779	0,8367	0,3283	0,2558	0,8856	0,2797	0,3344

XI.

Oxyde auf 100 Teile trockenes Fleisch.

Schweine-fleisch	Kaninchen-fleisch		Hündin-fleisch	Hahnenfleisch			Truthahnfleisch		
Muskeln	Muskeln		Muskeln	Muskeln			Muskeln		
Glatte	Quergestreifte		Quer-gestreifte	Glatte	Quergestreifte		Glatte	Quergestreifte	
Retractor penis	rote	weiße	Schenkel	Magen	rote	weiße	Magen	rote	weiße
20,60	25,06	25,05	25,20	21,25	24,59	26,82	23,03	26,14	27,43
79,40	74,94	74,95	74,80	78,75	75,41	73,18	76,97	73,86	72,57
—	1,725	1,5184	1,290	1,681	1,519	1,5282	1,9764	1,3865	1,350
—	0,2343	0,1759	0,1927	0,3372	0,3128	0,3318	0,3166	0,2285	0,1543
—	2,077	1,807	1,552	2,025	1,826	1,8401	2,38	1,669	1,625
—	0,3156	0,2370	0,2596	0,4542	0,4119	0,4469	0,4270	0,3078	0,2079
0,6306	0,1150	0,1046	0,1102	0,3936	0,1335	0,0935	0,3851	0,1069	0,1219

Tabelle

Bestandteile, berechnet als Elemente und

Bestandteile	Stierfleisch			Kuhfleisch		Büffelfleisch		Pferdefleisch	
	Muskeln			Muskeln		Muskeln		Muskeln	
	Glatte		Quergestreifte	Glatte	Quergestreifte	Glatte	Quergestreifte	Glatte	Quergestreifte
	Magen	Retractor penis	—	Uterus	—	Retractor penis	—	Retractor penis	—
Feste Stoffe	201,9	204,3	223,5	183,3	242,7	199,8	234,8	212,7	238,9
H_2O	798,1	795,7	776,5	816,7	757,3	810,2	765,2	787,3	761,1
K	3,655	2,666	—	2,247	—	2,628	—	—	—
Na	0,8869	1,093	—	1,539	—	1,513	—	—	—
K_2O	4,403	3,211	—	2,706	—	3,166	—	—	—
Na_2O	1,194	1,473	—	2,066	—	2,038	—	—	—
Cl	1,045	1,276	0,2472	1,107	0,3043	1,0028	0,4678	0,9764	0.3182

V. Schlußfolgerungen.

1. Was den Wassergehalt der Muskeln anbelangt, stimme ich mit vielen Forschern, wie z. B. Chittenden, Bottazzi und Cappelli usw. überein und kann also die Schlußfolgerung ziehen, daß die glatten Muskeln reicher an Wasser sind als die quergestreiften. Die von Schloßberger gesammelten Daten beweisen, daß die Muskeln von jungen Tieren, Fischen und Invertebraten im allgemeinen einen hohen Wassergehalt zeigen. Die glatten Muskeln würden hinsichtlich des Wassergehaltes zwischen den Muskeln junger Tiere und den Fischmuskeln stehen, wie man aus folgenden Zahlen ersieht.

	Muskeln	Wassergehalt %	Experimentatoren
Junge Tiere	Kalb (vor 4 Wochen geboren)	79,7	Schloßberger
	Falke (8 Tage alt)	79,2	„
	Ente (eben geboren)	85,4	„
	Huhn	77	„
Invertebraten: Krebs		85	„
Fische		79—82	Schloßberger, Brande, v. Bibra.
Säugetiere	Quergestreifte Muskeln	72—78	Schloßberger, Brande, v. Bibra.
	Glatte Muskeln	76, 97—81, 67	Chittenden, Bottazzi und Cappelli, A. Costantino.

Die weißen und roten quergestreiften Muskeln der Henne und Truthenne zeigten einen verschiedenen Wassergehalt, während die des Kaninchens gleiche Werte ergaben.

XII.

Oxyde auf 1000 Teile frisches Fleisch.

Schweinefleisch	Kaninchenfleisch		Hündinfleisch	Hahnenfleisch			Truthahnfleisch		
Muskeln	Muskeln		Muskeln	Muskeln			Muskeln		
Glatte	Quergestreifte		Quergestreifte	Glatte	Quergestreifte		Glatte	Quergestreifte	
Retractor penis	rote	weiße	Schenkel	Magen	rote	weiße	Magen	rote	weiße
206,0	250,6	250,5	252,0	212,5	245,9	268,2	230,3	261,4	274,3
794,0	749,4	749,5	748,0	787,5	754,1	731,8	769,7	738,6	725,7
—	4,275	3,802	3,249	3,564	3,734	4,099	4,551	3,625	3,703
—	0,5871	0,4407	0,485	0,715	0,7694	0,890	0,7301	0,5976	0,423
—	5,208	4,579	3,913	4,293	4,491	4,935	5,481	4,364	4,461
—	0,7917	0,5937	0,654	0,963	1,0128	1,199	0,9834	0,8049	0,570
1,299	0,2884	0,2621	0,2779	0,8367	0,3283	0,2558	0,8856	0,2797	0,3344

2. Unterschiede im Na- und K-Gehalt zwischen glatten und quergestreiften Muskeln bestehen sicher. In dieser Hinsicht kann man jedoch keine allgemeine Regel aufstellen. Ich habe außerdem erhebliche Unterschiede zwischen dem Retractor penis des Stieres und des Büffels und dem Uterus der Kuh einerseits und den betreffenden quergestreiften Muskeln andererseits gefunden. Was diese letzteren anbelangt, hielt ich es nicht für meine Aufgabe, das nochmals zu tun, was andere Forscher schon getan haben, und ich habe mich bei dieser Gegenüberstellung an die von E. Bunge und von J. Katz für den Ochsen und das Kalb angegebenen Zahlen gehalten.

Kaum wesentliche Unterschiede fand ich zwischen glatten (Magen) und quergestreiften Muskeln bei Henne und Truthenne.

Von erheblichen und konstanten Unterschieden zwischen den weißen und roten quergestreiften Muskeln läßt sich einstweilen nicht sprechen, obwohl ich beim Truthahn und Kaninchen einen geringeren Na-Gehalt in den weißen Muskeln gefunden habe, während der K-Gehalt annähernd gleich blieb. Einen analogen Unterschied trifft man beim Hahn nicht an.

3. Der K-Gehalt des Retractor penis bei Rindern und des Kuhuterus ist viel geringer als der der quergestreiften Muskulatur derselben Tiere, während sich für die glatte Magenmuskulatur des Stieres, Hahnes und Truthahnes höhere K-Werte ergeben.

Ich führe hier einige von meinen Resultaten im Vergleich zu den von anderen Autoren angegebenen an:

K_2O	4,654 (‰ quergestreifte Muskulatur des Ochsen)	G. Bunge
„	4,41 („ „ „ „ „)	J. Katz
„	4,406 („ Stiermagen)	A. Costantino
„	4,293 („ Hahnenmagen)	id.
„	5,481 („ Truthahnmagen)	id.
„	3,221 („ Retractor penis vom Stier)	id.
„	3,166 („ „ „ „ Büffel) . . .	id.
„	2,706 („ Uterus der Kuh)	id.

4. Die glatten Muskeln der oben angeführten Säugetiere zeigen im allgemeinen einen höheren Na-Gehalt gegenüber dem der anderen Tiere, und insbesondere, wenn man die molekularen Verhältnisse der beiden Elemente betrachtet, enthält der Retractor penis des Stieres und des Büffels Na und K in ungefähr gleicher Menge. Im Uterus der Kuh überwiegt das Na gegenüber dem K.

Aus den erhaltenen Daten läßt sich das Äquivalentsverhältnis zwischen beiden Metallen leicht berechnen. Diese Berechnung ergibt folgende Resultate:

	K:Na
Kalbfleisch (quergestreifte Muskeln) J. Katz . . .	2,60:1
Ochsenfleisch (quergestreifte Muskeln) J. Katz . .	3,34:1
Stierfleisch (Magen) A. Costantino	2,43:1
Kaninchenfleisch (rote quergestreifte Muskeln) A. Costantino . . .	4,35:1
Stierfleisch (Retractor penis) id. . . .	1,43:1
Büffelfleisch („ „) id. . . .	1,02:1
Kuhfleisch (Uterus) id. . . .	0,85:1

5. Der Cl-Gehalt der quergestreiften und glatten Muskeln ist verschieden. Am größten ist er in den glatten Muskeln der Säugetiere, während der Cl-Gehalt der quergestreiften Muskulatur viel geringer ist. In dieser Hinsicht unterscheiden sich meine Resultate von denen von G. Bunge und J. Katz, da diese Autoren einen höheren Cl-Gehalt als den von mir in der quergestreiften Muskulatur der Säugetiere konstatierten angetroffen haben. Diese Nichtübereinstimmung kann vielleicht,

wenigstens zum Teil, der von mir getroffenen guten Auswahl des Materials zugeschrieben werden.

6. Auch bei den Vögeln bemerkt man einen ausgeprägten Unterschied zwischen glatten und quergestreiften Muskeln. Die Cl-Werte für die glatten Muskeln der Vögel stehen jedoch, obwohl sie die der betreffenden quergestreiften Muskeln übersteigen, weit unter den für die glatten Muskeln der Säugetiere gefundenen.

7. Unterschiede im Cl-Gehalt zwischen (weißen und roten) quergestreiften Muskeln, wie auch im allgemeinen zwischen den quergestreiften Muskeln der verschiedenen von mir studierten Tiere, bestehen nicht.

8. Der Umstand, daß sehr hohe Na- und Cl-Werte bei den glatten Muskeln der Rinder angetroffen wurden, gestattet die Anwesenheit des Natriums und des Chlors im glatten Muskelgewebe als erwiesen anzunehmen.

Die Herstellung hochwertiger spezifischer Schafhämolysine ohne Verwendung von Schafblut.

Ein Beitrag zur Lehre von heterologer Antikörperbildung.

Von

J. Forssman.

(Aus dem pathologischen Institut der Universität Lund, Schweden.)

(*Eingegangen am 14. Oktober 1911.*)

Mit 1 Figur im Text.

Bekanntlich sind die Immunsera vom morphologisch-zoologischen Gesichtspunkte aus nicht absolut spezifisch, sondern ihre Spezifizität in dieser Hinsicht ist nur von relativer, quantitativer Art. Ein Typhusserum agglutiniert also nicht nur den Bac. typhi, sondern, obgleich weniger stark, auch andere dem Typhusbacillus mehr oder weniger nahestehende Bacillen, und durch Seruminjektionen erhaltene Präcipitinsera präcipitieren ja allerdings am kräftigsten die für ihre Herstellung injizierten Serumarten, präcipitieren aber auch Sera anderer Tiere um so stärker, je näher die Verwandtschaft mit denjenigen Tieren ist, die die ursprünglich injizierten Sera geliefert haben (Nuttall). Die hämolytischen Sera, mit denen wir uns später speziell beschäftigen werden, sind in diesem Punkte nicht so systematisch und genau untersucht worden wie die agglutinierenden und präcipitierenden Sera. Wohlbekannte Tatsachen, wie z. B. die Auflösung von Affenblut durch menschenhämolytisches Serum oder die Eigenschaft vom ochsenhämolytischen Serum auch Schaf- und Ziegenblut zu hämolysieren, beweisen

jedoch deutlich, daß absolute Spezifizität auch hier nicht herrscht. Daß die Spezifizität hier allerdings schärfer ist als bei den Präcipitinsera, scheint indessen dadurch wahrscheinlich, daß man meines Wissens keine hämolytischen Sera von einer solchen Wirkungsbreite kennt, wie man sie bei den obengenannten Präcipitinsera findet.

Daß die Spezifität der Immunsera in dieser Weise beschränkt und nicht absolut ist, hängt, wie bekannt, davon ab, daß ein Immunserum mehrere verschiedene Antikörper enthält, die in zwei Gruppen verteilt werden können, einerseits diejenigen, die *nur* auf die ursprüngliche Immunisierungsflüssigkeit resp. Suspension einwirken und darum homologe Antikörper benannt werden, andererseits alle die anderen Antikörper, die auch oder nur auf solche Substanzen wirken, die bei der Herstellung des resp. Immunserums keine Rolle gespielt haben; diese letztgenannten Antikörper werden als heterologe bezeichnet. In der Regel überwiegen die homologen Antikörper gegenüber den heterologen bedeutend; jene sind das erwünschte Hauptprodukt, diese dagegen die mehr oder weniger unerfreulichen Nebenerzeugnisse. Bisweilen scheint es jedoch vorzukommen, daß die heterologen Antikörper in einem Immunserum nicht nur gleich stark entwickelt sein können wie die homologen, sondern selbst diese Quantitäten ein wenig übertreffen. So erwähnt z. B. Brezina[1]), wie er durch Injektionen von Schafblut hämolytische Sera bekommen habe, die Ochsenblutkörperchen stärker als die von Schaf auflösten, und ähnliches haben auch Posselt und Sagasser betreffs Hämolysinen[2]) und Ballner und Sagasser[3]) betreffs Agglutininen gefunden. So weit es Hämolysine betraf, wirkten in diesen Fällen die stärkeren heterogenen Antikörper auf Blutkörperchen von Tieren, die den homologen Tieren nahestehend waren, wie z. B. Schaf und Ochs usw., was ich mit Rücksicht auf meine eigenen unten zu besprechenden Untersuchungen hier hervorheben möchte.

---

[1]) Brezina, Über Konkurrenz der Antikörper. Münch. med. Wochenschr. 1907.

[2]) Zit. nach Rösele, Fortschr. der Cytotoxinforschung in Lubarsch-Ostertags Ergebnisse 13, 164, 1911.

[3]) Ballner und v. Sagasser, Über die Bildung von homologen und heterologen Agglutininen im Tierkörper. Arch. f. Hygiene 51, 1904.

Beobachtungen dieser Art sind ohne Zweifel von großem Interesse, werden aber von denjenigen verdunkelt, wo die heterologen Antikörper entweder die einzigen oder die in enormem Grade überwiegenden sind und wo also homologe Antikörperbildung entweder vermißt wird oder ganz geringfügig ist. Wir sind ja gewöhnt, z. B. Diphtherieantitoxin durch Injektionen von Diphtherietoxin und Schafbluthämolysin durch Injektionen von Schafblut zu bekommen, wenn aber ebenso große Mengen dieser Antistoffe durch Injektionen von anderen Substanzen, z. B. Hühnereiweiß oder Meerschweinchenorganemulsion, wie nach den obengenannten homologen Injektionen hervorgerufen werden könnten, dann würde dies ohne Zweifel nicht verfehlen, unsere Auffassung in bezug auf die Mechanik der Antikörperbildung zu beeinflussen und Skepsis gegen die alten Schemata und Theorien in bezug auf diese Frage zu erwecken.

Doch den meisten Lesern scheint wohl der Gedanke an eine solche heterogene Antikörperproduktion wie in den zwei oben gewählten Beispielen als ziemlich zwecklos, da derselbe ihnen wahrscheinlich ganz absurd vorkommt. Was das Beispiel des Diphtherieantitoxins betrifft, so ist dies es auch, das will ich zugeben, nur als eine aprioristische Möglichkeit von mir angeführt, das andere Beispiel dagegen, die Schafhämolysinbildung nach Injektionen von Meerschweinchenorganemulsionen, entspricht den tatsächlichen Verhältnissen.

Diesen letztgenannten Fall heterologer Antikörperbildung habe ich vor kurzem, mit cytologischen Untersuchungen beschäftigt, beobachtet, und da ich, wie schon oben gesagt, überzeugt bin, daß durch Erforschung heterologer Immunitätserscheinungen neue wichtige Gesichtspunkte und neue Anregungen für das Verständnis vieler Immunitätsprobleme zu gewinnen sind, habe ich dieser von mir entdeckten Tatsache ein genaues Studium gewidmet.

Das Resultat dieser meiner Arbeit werde ich unten mitteilen, nachdem ich zuerst über unsere bisherigen Kenntnisse bezüglich heterologer Antikörperbildung Bericht erstattet habe, so weit es nämlich diejenige Form der heterologen Antikörperbildung betrifft, wo die heterologen Antikörper die einzigen

Antikörper oder jedenfalls die überwiegenden Hauptprodukte der Immunisierungen sind[1]).

In einer 1904 erschienenen Mitteilung berichten Ballner und Sagasser[2]) unter anderem auch über die höchst merkwürdigen Resultate, die sie durch Injektionen von Rosahefekulturen resp. Filtraten solcher Kulturen bei 3 Kaninchen erhalten haben. Die Sera der so behandelten Tiere agglutinierten nämlich Typhus-, Dysenterie- und Kolibacillen, „eine Beeinflussung aber der zur Immunisierung verwendeten Spezies konnte weder im Normalserum noch im Immunserum konstatiert werden". Von den drei Sera agglutinierte das erste Typhus- und Dysenteriebacillen in Verdünnung von 1:1000, Kolibacillen nur in 1:5, das zweite Typhusbacillen in 1:200, Kolibacillen in 1:100 und Dysenteriebacillen in 1:50, und das dritte Kolibacillen in 1:100, während es die Typhus- und Dysenteriebacillen nur in 1:10 agglutinierte, was innerhalb der Grenzen des Agglutiningehaltes der Normalsera liegt. (Der Agglutiningehalt der Normalsera für Typhusbacillen wechselt von 1:1 bis 1:40. Siehe die Tabellen auf S. 255 und 256 in der Arbeit von Ballner und Sagasser.)

Catharine Collins[3]) hat dann diese Untersuchungen von Ballner und Sagasser fortgeführt. Da sie aber die Rosahefekulturen nicht besaß und nicht identifizieren konnte, und bei Verwendung von Kulturen eines „Red yeast, obtained from air" keine positive Ergebnisse erhielt, fing sie an, Kulturen von Brauereihefe zu verwenden. Bei mehreren Kaninchen und einer Ziege injizierte sie also solche Reinkulturen. Nach

---

[1]) Hierbei berücksichtige ich indessen nicht diejenigen Beobachtungen, wo man mit verschiedenen chemischen und physikalischen Mitteln (Pilocarpin, Arsenikderivaten, Pyrogallol, Aderlässe, Wärme usw.) versucht hat, eine Steigerung der Antikörperbildung bei schon immunisierten Tieren zu bewirken. Teils entbehren diese Faktoren jeder Spur spezifischer Wirkung, wodurch sie den gewöhnlichen Immunisierungsprozessen fernstehen, teils ist es nicht möglich, eine solche allgemeine Einwirkung auf schon fortlaufende Prozesse mit dem Herauslösen selbst der Prozesse auf eine Stufe zu stellen.

[2]) Ballner und v. Sagasser, l. c.

[3]) Catharine R. Collins, The production of agglutinins in the animal body by the inoculation of substances other than products of bacterial origin. Journ. of experim. med. 10, 1908.

18wöchentlichen Injektionen erhielt sie bei der Ziege eine Steigerung des Agglutiningehaltes für Dysenteriebacillus Typ. Flexner Manila von 1:20 bis 1:1000 und einige von den Kaninchen wiesen dasselbe Resultat auf.

In Bindungsversuchen zwischen dem Ziegenserum und Dysenteriebacillus Typ. Flexner Manila, Typhusbacillen, Hefe- und Torulacellen wurde alles Agglutinin vom Dysenteriebacillus absorbiert, während Bac. typhosus und die Hefe alles, ausgenommen 5%, absorbierten; diese letztgenannte Agglutinationsmenge würde nach Collins' Auffassung, aber im Gegensatz zu ihrer eigenen Tabelle, ungefähr dem Normalagglutiningehalt des Serums entsprechen. Wie die Torula sich bei den Bindungsversuchen verhielt, ist nicht angegeben. Ob sie diese Absorption des Agglutinins durch die Hefe — das Antigen — als eine spezifische Absorption betrachtet oder nicht, darüber sagt Collins nichts. Da aber einerseits Flexner Manila, der ja vom Serum agglutiniert wurde, zum Unterschied von der Hefe alles Agglutinin absorbierte und andererseits der Typhusbacillus, den das Serum ebensowenig (s. Tabelle I bei Collins) wie die Hefe agglutinierte, ebensoviel absorbierte wie die Hefe, scheint mir keine Veranlassung vorzuliegen, die Absorption durch die Hefe als spezifisch anzusehen.

In der Absicht, Agglutinine hervorzurufen, injizierte dann Collins eine Reihe verschiedener Substanzen, wie Fermente (Diastase, Pankreatin und Invertin), Nucleoproteide, aus Pankreas dargestellt, Äthylmercaptan, Aloneurat, S- und P-haltige Ca, Na und K-Salze; durch alle wurde eine Steigerung desselben Flexner-Manila-Agglutinins von 1:50 bis 1:500 herbeigeführt. Daß die Fermentlösungen keine Bindung mit dem durch Injektion von denselben ausgelösten Agglutinin eingingen, sagt Collins ausdrücklich und dasselbe muß man auch wenigstens betreffs der für den Zweck benutzten obenerwähnten Salze annnehmen, auch wenn das nicht in der Arbeit hervorgehoben wird.

Ballners, Sagassers und Collins Ergebnisse, über die ich hier einen kurzen Bericht gegeben habe, geben zu folgenden Fragen Veranlassung. Diejenigen, die der Auffassung sind, daß die in Normalsera vorkommenden Antikörper von den immunisatorisch erzeugten prinzipiell verschieden sind,

stehen natürlich vor der Frage, welcher dieser Gruppen die von den genannten Forschern erhaltenen Antikörper angehören, und auf der anderen Seite dürften auch diejenigen, die die Identität gleichwirkender Normal- und immunisatorischer Antikörper annehmen, mit Hinsicht auf die oft recht erheblichen Schwankungen des Antikörpergehaltes im Normalsera unsicher sein, ob die hier beobachteten Steigerungen als nur ein wenig vergrößerte Normalschwankungen zu deuten sind oder ob sie wirklich mit den Steigerungen gleichzustellen sind, die man durch homologe Immunisierungen bekommt.

Eine sichere Entscheidung in dieser oder jener Richtung ist aber nach dem, was man bei den Verfassern findet, nicht möglich. Betreffs der Collinsschen Versuche, den Hefeversuch jedoch ausgenommen, muß man zuerst bemerken, daß die Steigerung des Agglutiningehalts, der normal 1:50 sein kann, einerseits nicht bedeutend ist, daß andererseits auch ganz dieselbe ziffernmäßige Steigerung durch so weit verschiedene und vor allem durch so indifferente Substanzen wie die obenerwähnten erhalten worden ist, was kaum anders zu deuten ist, als daß die fraglichen Agglutininerhöhungen ein wenig vergrößerte Normalschwankungen sind.

Über die Collinsschen Hefeversuche und über diejenigen von Ballner und Sagasser ist es noch schwieriger, sich zu äußern. Die Serumwerte sind hier höher und in dieser Hinsicht nähern sich diese Sera mehr den gleichwirkenden Immunseras, erreichen aber doch, das muß gesagt werden, nicht die Höhe der Serumwerte, die man bei homologer Immunisierung gewöhnlich erhält; hierbei möchte ich daran erinnern, daß Collins bis 18 wöchentliche Injektionen gemacht hat und daß man also annehmen muß, daß genügende Antigenmengen eingeführt worden sind. Die Verfasser selbst äußern sich auch sehr vorsichtig zu der hier diskutierten Frage.

Ausgehend von der Richtigkeit der Seitenkettentheorie deuten Ballner und Sagasser ihre Befunde folgendermaßen: „Es müßte nach der Seitenkettentheorie angenommen werden, daß die ungleichmäßig ausgebildeten haptophoren Gruppen der Ausgangskörper von den Seitenketten partiell verankert werden, so daß der Organismus, unfähig spezifisch zu reagieren, in einer ihm geläufigeren Form der Agglutininproduktion antwortet",

und Collins, die ablehnt, sich bestimmt auszusprechen, deutet jedoch an, daß sie die Agglutininproduktion in ihrem Falle als eine Erhöhung schon befindlicher Normalagglutinine ansieht (Seite 535 bei Collins).

Außer diesen soeben besprochenen Arbeiten möchte ich noch zwei kurze Mitteilungen von Frouin und Frouin und Lisbonne erwähnen. Frouin[1]) gibt an, daß er durch Extraktion von Eigelb mit Aceton und Injektion des eingetrockneten Extrakts Hämolysine gegen Hundeblut bekommen hat. Über die Stärke der erhaltenen Hämolysine sagt er jedoch kein Wort. Vor kurzem hat er zusammen mit Lisbonne[2]) durch intraperitoneale Injektionen bei Kaninchen von „l'huile d'œuf" Hämolysine gegen Hunde-, Schaf-, Ochsen-, Pferde-, Ziegen- und Hühnerblut erhalten. Die Injektionen wurden alle 5 oder 6 Tage gemacht, wobei etwa 0,5 ccm „de l'huile d'œuf" jedesmal eingespritzt wurde, und nach 3 bis 6 solchen Injektionen lösten die Sera in Dosen von 0,2 und 0,3 ccm alle die eben erwähnten Blutsorten. Es wird nicht angegeben, welche Blutmengen bei den Proben verwandt worden sind; wenn man aber annimmt, daß sie mit 5% Blutaufschwemmungen wie gewöhnlich ausgeführt worden sind, so fallen die erhaltenen Hämolysinwerte, soweit sie Pferd und Schaf betreffen, ganz innerhalb der Grenzen für die normalen Schwankungen[3]), und wenn auch eine Steigerung der Hämolysine den anderen Blutsorten gegenüber vorgekommen ist, so ist sie doch so unbedeutend, daß man dieser keine besondere Bedeutung beimessen kann.

Ich gehe jetzt zu meinen eigenen Untersuchungen über.

Die quantitativen Schwankungen des Schafhämolysins im normalen Kaninchenserum.

Die erste Voraussetzung, um überhaupt beurteilen zu können, in welchem Grade eine Substanz imstande ist, Anti-

[1]) Frouin, Sur la formation de Sérums exclusivement agglutinants ou hémolytiques. Compt. rend. 62, 1907.

[2]) Frouin et Lisbonne, Sur la nature des hémolysines formées par injection d'huile d'œuf chez le lapin. Compt. rend. 70, 1911.

[3]) Siehe Riesling, Beiträge zur Biologie normaler Tiersera, Centralbl. 44 und untenstehende Untersuchung über die normalen Schwankungen des Normalschafhämolysins bei Kaninchen.

körperbildung hervorzurufen, ist natürlich zu wissen, wie groß die Schwankungen des Antikörpergehalts ohne jede Eingriffe sind, mit anderen Worten: die normalen Schwankungen des Antikörpergehalts zu kennen. Da meine Versuche, Schafhämolysine durch Injektionen von Meerschweinchenorganen auszulösen, bei Kaninchen durchgeführt sind, gebe ich also hier zuerst eine Übersicht darüber, wie große Mengen von Schafhämolysinen Kaninchennormalsera enthalten können.

Bekanntlich wechselt der Antikörpergehalt der Normalsera bedeutend nicht nur von Tier zu Tier, sondern auch bei demselben Tiere zu verschiedenen Zeitpunkten. Mit Rücksicht hierauf habe ich erstens bei 10 Kaninchen während $2^1/_2$ Monate 3mal für jedes Tier den Gehalt des Serums von Schaf-, Ochsen- und Schweinehämolysinen festgestellt, dann auch die Sera aller meiner übrigen Versuchskaninchen vor Anfang der Versuche auf ihrem Gehalt an Schafhämolysinen untersucht.

Da es indessen von den ebengenannten drei Hämolysinen nur das Schafhämolysin ist, das durch die Meerschweinchenorganinjektionen gesteigert wird, während die beiden übrigen hierdurch unbeeinflußt bleiben, kann ich mich darauf beschränken, hier nur die Schwankungen des Schafhämolysins anzugeben.

Bei diesen und allen folgenden Versuchen wurde, wo anderes nicht speziell gesagt wird, in der unten beschriebenen Weise verfahren.

Von den Tieren wurde für die Serumprüfungen nur 1 bis 2 ccm Blut entnommen, was, auch da man mehrere Tage nacheinander solche Quantitäten nahm, keine merkbare Einwirkung auf die Hämolysinmenge hervorrief. Alle Sera wurden bei 56° in $^1/_2$ Stunde inaktiviert. Die Prüfungen sind mit 1 ccm 5%igem Schafblut (gewaschenes Blut) und unter Zufügung von 0,1 ccm Meerschweinchenserum als Alexin gemacht. Dabei habe ich natürlich nur solches Meerschweinchenserum, das in einer Dosis von 0,1 ccm selbst gar keine Hämolyse machte, genommen[1]). Nach 1 Stunde bei 37° wurden die Proben abgelesen, wobei diejenigen Röhrchen, wo die Hämolyse nur partiell war, vorher zentrifugiert wurden.

Die größten Schwankungen, die ich in Serumproben von einem und demselben Tiere gesehen habe, werden durch die folgende Tabelle veranschaulicht.

---

[1]) Meerschweinchensera, die in Dosis von 0,1 ccm 1 ccm 5%iges Schafblut total auflösen, sind nicht so sehr selten.

Tabelle I.

KS = Kaninchenserum, bei 56° 1/2 Stunde inaktiviert; MS = normales Meerschweinchenserum; Sbl = 1 ccm 5%ige Schafblutaufschwemmung (gewaschenes Blut);

vollständige Hämolyse = ××××,
fast „ „ = ×××,
starke „ = ××,
schwache „ = ×,
keine „ = 0,

( ) um eine Hämolysebezeichnung bedeutet, daß der Hämolysegrad kaum so stark ist[1]).

9. Mai:	0,20	KS	+	0,10	MS	+	Sbl	××
	0,10	„	+	0,10	„	+	„	×
	0,05	„	+	0,10	„	+	„	0
	0,20	„	+				„	0
				0,10	„	+	„	0
21. Mai:	0,20	„	+	0,10	„	+	„	××××
	0,10	„	+	0,10	„	+	„	××××
	0,05	„	+	0,10	„	+	„	××××
	0,04	„	+	0,10	„	+	„	×××
	0,20	„	+				„	0
				0,10	„	+	„	0
21. Juli:	0,20	„	+	0,10	„	+	„	×××
	0,10	„	+	0,10	„	+	„	××
	0,05	„	+	0,10	„	+	„	×
	0,20	„	+				„	0
				0,10	„	+	„	0

Das Serum vom 21. Mai dieses Kaninchens ist auch das stärkste schafhämolytische Normalserum, das ich je gesehen habe, nicht nur unter den zehn obenerwähnten, in verschiedenen Zeitpunkten untersuchten Kaninchen, sondern auch unter allen den Versuchskaninchen, die ich später in dieser Beziehung geprüft habe. Eine solche Serumstärke, daß 0,05 ccm vollständige Hämolyse von 1 ccm 5%igem Schafblut bewirkt, kommt jedoch nicht oft vor. Auf der anderen Seite verursachte das schwächste Serum, das ich gefunden habe, nur schwache Hämolyse (×) derselben Menge Schafblut in einer Dosis von 0,20 ccm, was erfahrungsmäßig ungefähr 0,8 ccm als vollständig lösende Dosis entspricht. Zwischen diesen beiden Extremen schwankt also der Gehalt des normalen Kaninchenserums an Schafhämolysin.

[1]) Dieselben Abkürzungen werden auch in den späteren Tabellen verwendet.

Technik der Injektionen.

Alle Injektionen von Meerschweinchenorganemulsionen bei den Versuchskaninchen sind, wo nichts anderes speziell gesagt wird, intraperitoneal gemacht worden. In den ersten Versuchen wurden die Meerschweinchenorgane in einer Reibschale zerrieben, in 0,8%iger NaCl-Lösung aufgeschwemmt und, was davon durch eine millimeterdicke Kanüle gepreßt werden konnte, injiziert.

Da jedoch das Hervortreten des Schafhämolysins nach diesen Injektionen zeitlich im Verhältnis zu den Injektionsdaten sehr wechselte und dies wahrscheinlich von Beimengungen größerer und kleinerer Gewebsfetzen abhing, habe ich später die Emulsionen durch doppeltes, dichtes Kompreßtuch filtiert, wodurch alle gröberen Gewebstrümmer zurückgehalten wurden und eine sehr feine, gleichförmige, durch dünne Kanülen einspritzbare Flüssigkeit hervorging. Die Resultate betreffs der Hämolysinbildung sind dann auch mehr regelmäßig geworden. Die angewandten Meerschweinchenorgane stammten teils von gesunden, teils von leicht tuberkulösen Tieren, die zufälligerweise zu haben waren, was keine Verschiedenheit in bezug auf die Hämolysinproduktion verursachte; von einigen Meerschweinchen ließ ich nur das Blut abfließen, andere spülte ich mit 0,8%iger NaCl-Lösung so lange durch, bis das Abflußwasser ungefärbt war, ehe ich die Organe verwandte, ohne aber beobachten zu können, daß hierdurch die Resultate beeinflußt wurden; nur verhielten die Sera sich ein wenig verschieden gegenüber Meerschweinchenblut in diesem oder jenem Falle, was ja übrigens zu erwarten war.

Geprüfte Organe.

Die folgenden Organe sind auf ihre Fähigkeit, Schafhämolysine hervorzurufen, geprüft, nämlich: Nieren, Nebennieren, Leber, Testes und Gehirn, alle mit positivem Resultate. Wie immer bei Immunisierungen, muß man ja auch hier mit großen Verschiedenheiten der Tiere, Immunstoffe zu erzeugen, rechnen, und dadurch wird es auch schwierig zu entscheiden, ob das eine oder andere Organ in dieser Beziehung mehr leiste, soweit man nicht eine sehr große Versuchsreihe mit jedem Organe überblicken kann. Nur bei Nieren, Nebennieren und Leber ist das der Fall, und dessentwegen kann ich sagen, daß die erstgenannten beiden Organe der Leber überlegen sind, trotzdem ich die größte Steigerung des Hämolysingehaltes, die ich überhaupt bei diesen Versuchen gesehen habe, nach einer Leberinjektion erhielt, eine Steigerung des Serums in 4 Tagen von 300- bis 3000-wertig[1]); dies war aber eine Ausnahme; durch Leberinjektionen

[1]) Als Serumwerte sind die reziproken Werte der gefundenen Immunkörperdosen bezeichnet, die zusammen mit 0,10 ccm Meerschweinchen-

bekommt man im allgemeinen nicht so hochwertige Sera wie nach Nieren- und Nebenniereninjektionen.

Durch Injektionen von Meerschweinchenblut kann man dagegen *nicht* Schafhämolysin erhalten. Das Blut von denselben Meerschweinchen, deren Leber und Nieren, wie es sich später erwies, solches Hämolysin hervorriefen, wurde bei zwei Kaninchen intraperitoneal injiziert. Nach mehreren solchen Injektionen löste das inaktivierte Serum des einen Kaninchens 1 ccm 5%iges Meerschweinchenblut in Dosis von 0,0004 ccm unter Anwendung von 0,1 ccm normalen Kaninchenserums[1]) als Alexin (das Alexin selbst unwirksam) vollständig auf, während es, selbst in Dosis von 0,10 ccm, weder mit Kaninchenserum noch mit Meerschweinchenserum eine Spur von Hämolyse des Schafblutes bewirkte; das ebenfalls inaktivierte Serum des anderen Kaninchens, von welchem 0,01 ccm Serum mit Kaninchenserum als Alexin 1 ccm 5%iges Meerschweinchenblut komplett hämolysierte, verursachte in einer Dosis von 0,10 ccm mit Meerschweinchenalexin im 5%igen Schafblut nur starke Hämolyse (++) und mit Kaninchenalexin fast gar keine Hämolyse, was ja keine Steigerung des Gehalts vom Schafhämolysin im Vergleich zu den Normalseren bedeutet.

Die Zusammensetzung des Ms-Schafhämolysins.

Mit Ms-Schafhämolysin oder Ms-schafhämolytischem Serum bezeichne ich hier und später das durch Meerschweinchenorganemulsionen erhaltene Schafhämolysin oder schafhämolytisches Serum zum Unterschied von dem gewöhnlichen Schafhämolysin oder schafhämolytischen Serum, das man durch Injektionen von Schafblut bekommt. Wie dieses, so ist auch jenes Hämolysin aus Immunkörper und Alexin zusammengesetzt. Es wird durch $^1/_2$stündiges Erwärmen bei 56° inaktiviert und durch Zusatz von Normalserum reaktiviert, wobei Meerschweinchenalexin kräftiger wirkt als Kaninchenalexin, was auch bei dem gewöhnlichen Schafhämolysin der Fall ist. (Wie schon gesagt, sind

---

serum komplette Hämolyse von 1 ccm 5%iger Schafblutaufschwemmung geben.

[1]) Das Kaninchenserum ist in dieser Kombination ein kräftigeres Alexin als das Meerschweinchenserum.

alle Serumproben nach $^1/_2$stündigem Erwärmen und mit Meerschweinchenalexin untersucht.) Sowohl bei 37° als bei 0° wird der Immunkörper schnell an die Schafblutkörperchen fixiert, weshalb man auch in dieser Weise dem Serum die Ms-Schafimmunkörper entziehen kann. Diese Fixation der fraglichen Immunkörper ist, soweit ich gesehen habe, sehr spezifisch; es gelingt also nicht, die Immunkörper weder an Meerschweinchen-, noch an Ochsen- oder Schweineblut zu binden.

Der Gehalt von Ms-Schafbluthämolysin der Sera.

Wie bekanntlich die Menge des Hämolysins nach Blutinjektionen bei verschiedenen Tieren derselben Spezies wechselt, so ist es auch der Fall mit dem Ms-Schafhämolysin nach Meerschweinchenorganinjektionen. Auf der einen Seite findet man also auch hier solche Kaninchen, die sehr wenig Hämolysin produzieren, auf der anderen solche, die sehr bedeutende Mengen geben. Ein Mittelwert, der sehr leicht zu erreichen ist, ist ein 1000wertiges Serum. Das habe ich mehrmals sogar durch eine einzige intraperitoneale Injektion von 1 bis 1,2 g Nierensubstanz bekommen. Unter intraperitoneal injizierten Tieren habe ich dreimal noch höherwertigen Sera, zwei 2000- und ein 3000wertiges, erhalten. Nach *intravenösen* Injektionen habe ich öfter solche hochwertige Sera gesehen, davon einmal ein 8000wertiges, und wahrscheinlich gelingt es ohne Schwierigkeit, noch höhere Sera hervorzubringen.

Doch schon mit den jetzt erreichten Serumwerten ist man so weit gekommen, daß die erhaltenen Sera in bezug auf die Stärke in dieselbe Kategorie, auf dieselbe Stufe wie die durch Blutinjektionen gewonnenen schafhämolytischen Sera, also mit den der allgemeinen Meinung gemäß wirklichen Immunsera, zu setzen sind. Es ist allerdings richtig, daß noch höherwertige Sera als die hier erwähnten durch Blutinjektionen erhalten werden können, aber dasselbe kann, wie oben gesagt, wahrscheinlich auch mit Meerschweincheninjektionen gelingen, und wenn man schafhämolytisches Serum durch Blutinjektionen herzustellen versucht, ist man im allgemeinen mit 1000-, 2000- bis 5000wertigen Seras zufrieden, und ein 8000wertiges wird als ein sehr gutes Ergebnis betrachtet.

Grundzüge der Ms-Schafbluthämolysinkurve.

Die Ms-Schafhämolysinkurve ist in verschiedenen Fällen ein wenig variabel. Diese Variabilität hängt zunächst vom Grade des Zermahlens der Organe ab. Wird dieses sehr sorgfältig ausgeführt, so löst sich wahrscheinlich auch derjenige Stoff leicht und schneller heraus, der die Hämolysinbildung hervorruft, während dieser Stoff aus gröberen Gewebsfetzen schwieriger und langsamer ausgezogen wird, weshalb die Hämolysinbildung dann verzögert wird. In dieser Weise habe ich es mir jedenfalls erklärt, daß nach Injektionen unfiltrierter, größere Gewebstrümmer enthaltender Aufschwemmungen die Hämolysinbildung sehr oft viel später auftrat, als nach Injektionen von sehr fein emulgierten, durch dünne Kanülen einspritzbaren Aufschwemmungen.

Die Grundzüge der Kurve, die unten gegeben werden, gelten also nur für solche Fälle, wo die injizierten Flüssigkeiten feine Organemulsionen sind. Außerdem habe ich nur die Kurve nach intraperitonealen Injektionen untersucht, dagegen sie weder nach subcutanen noch intravenösen Injektionen studiert.

Nach der ersten Injektion entwickelt sich bei einem Kaninchen die Hämolysenbildung immer sehr langsam. Am 5. Tage ist sie sehr unbedeutend, steigt dann schneller, um ungefähr am 13. Tage ihren Höhepunkt zu erreichen und dann zuerst schnell, dann langsam herunterzugehen. Weitere (also die zweite, dritte usw.) Injektionen lösen ihren Effekt dagegen viel schneller aus. Einigemal schon am 2., am häufigsten aber am 4. bis 7. Tage nach der Injektion fällt der Höhepunkt der Kurve, um am 7., 8. oder 9. Tage schnell zu fallen. Aus meinen zahlreichen Kurven gebe ich hier drei Beispiele verschiedener Typen, wo die eben genannten Charaktere hervortreten (Fig. 1).

Die Abszissen der Kurven stellen die Zeitverhältnisse dar, wobei die Länge einer Quadratseite 20 Tage bedeutet, die Ordinaten die Serumwerte. Die großen Punkte geben die Tage für das Entnehmen der Blutproben an (da auf der Höhe der Kurve jeden Tag 16 Blutproben genommen wurden, sind die Punkte in eine dicke Linie übergegangen). Die Pfeile markieren die Injektionstage, und die dabei befindlichen Angaben über die injizierten Quantitäten bedeuten die Mengen, die von den angewandten Organen für die fraglichen Injektionen aufgeschwemmt worden sind.

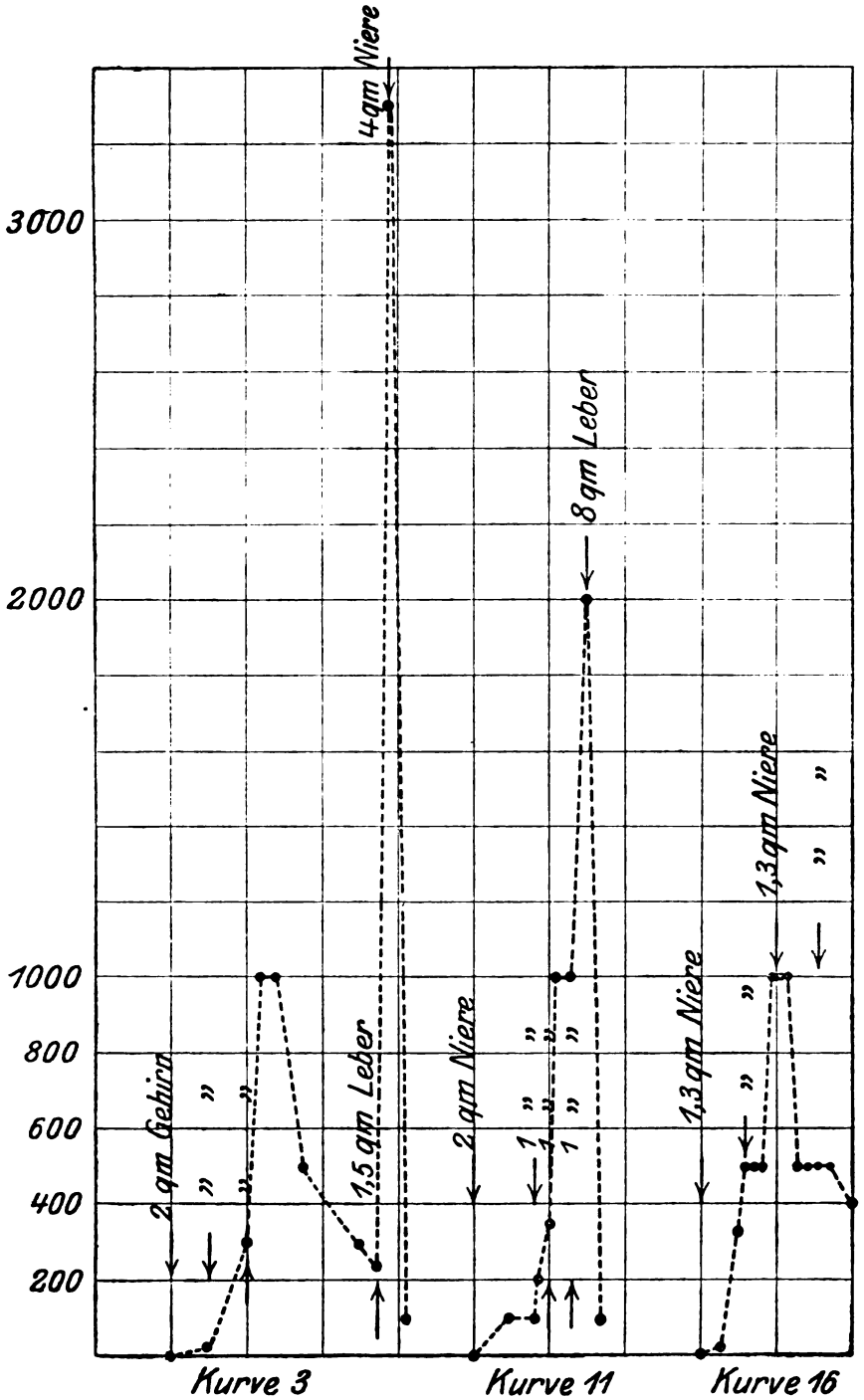

4gm Niere
3000
2000
8gm Leber
1000
800
600
400
200
2gm Gehirn
»
»
1,5gm Leber
2gm Niere
1
»
»
»
1
»
»
1
»
1,3gm Niere
»
»
»
1,3gm Niere
»
Kurve 3
Kurve 11
Kurve 16

Fig. 1.

In einigen Fällen habe ich jedoch gesehen, daß der Serumwert sehr andauernd auch nach einer 2., 3. oder 4. Injektion steigt und seinen Höhepunkt viel später erreicht, als am 2., 4. oder 7. Tage. So war es z. B. der Fall bei einem Kaninchen, das zweimal Emulsionen von jedesmal 2 Nebennieren bekommen hatte, und dessen Serum einen Monat nach der letzten Injektion 200wertig war. Dasselbe wurde dann nochmals mit einer Emulsion von 2 Nebennieren injiziert; 8 Tage nachher war das Serum noch immer 200wertig, einen Monat später 500wertig und nach noch einem Monat, also 9 Wochen nach der Injektion, 1000wertig. Hier ist also die Steigerung des Hämolysingehalts sehr langdauernd gewesen. Ich kann dies nicht anders erklären, als daß durch eine Einkapselung des injizierten Materials der die Hämolysinbildung hervorrufende Stoff sehr langsam und schwierig ausgelöst worden ist.

Fährt man mit neuen Injektionen immer fort, so geht es hier wie bei Blutimmunisierungen; nach 3, 4, 5 oder 6 Injektionen geht der Serumwert trotz der neuen Injektionen herunter; wenn aber ein solches Tier ohne Behandlung während einiger Zeit gewesen ist, steigt nach einer jetzt gegebenen Injektion der Hämolysingehalt oft sehr hoch und schnell (siehe Kurve 3), was ebenfalls den Verhältnissen bei Blutimmunisierungen genau entspricht.

Dosierungen.

Aus den mitgeteilten Kurven sieht man, welche Quantitäten der verschiedenen Organe für die Herstellung der Emulsionen verwendet worden sind. Da nur ein Bruchteil in die Emulsionsflüssigkeit übergeht, während das übrige vom Filter zurückgehalten wird, so ist es deutlich, daß die injizierten Quantitäten viel kleiner sind als die auf den Kurven angegebenen. Wieviel durch das Filter passiert, wechselt mit den verschiedenen Organen. Für Niere und Leber habe ich es in einigen Fällen quantitativ bestimmt und dabei gefunden, daß, wenn ich 2 g Niere oder 2 g Leber zermahlte, in 10 ccm 0,8%iger NaCl-Lösung aufschwemmte und filtrierte, das Filtrat von Nierensubstanz 0,10 bis 0,115 g enthielt, von Lebersubstanz 0,11 bis 0,12 g, also bei diesen beiden Organen ungefähr $^1/_{20}$ oder 5%. Vom Gehirn geht viel mehr durch das Filter.

Wenn man dies bedenkt, versteht man, daß die Steigerungen in den Kurven durch sehr unbedeutende Mengen der Meerschweinchenorgane ausgelöst worden sind.

Ausgehend vom Gewichte einer Niere beim ausgewachsenen Meerschweinchen, ungefähr 2 g, habe ich dann wechselnde Mengen der Organe genommen, um zu sehen, innerhalb welcher Gewichtsgrenzen man sich bewegen kann, um dabei gute Resultate zu bekommen. Bei *intraperitonealen* Injektionen habe ich mit 0,30 bis 2 g Organ (hierbei ist nur die Frage, wieviel von einem Organe emulgiert ist, nicht wieviel nach der Filtration injiziert ist) guten Erfolg gehabt. Ob es bei intraperitonealen Injektionen gelingt, Hämolysinbildung auszulösen, auch wenn man mit der Dosierung noch weiter hinuntergeht, kann ich nicht sagen; bei intravenösen Injektionen aber habe ich durch 0,10 g Nierensubstanz (0,006 g im Filtrat!) eine Steigerung des Serumwertes von 2,5 bis 200 bekommen, und durch 0,25 g Nierensubstanz (0,027 g im Filtrat!), in 2 Injektionen verteilt, in 3 Wochen eine Steigerung von 2 bis 2500 erhalten.

Es sind, wie man sieht, außerordentlich winzige Mengen, die so bedeutende Steigerungen auslösen können. Bessere Resultate sieht man auch nach Schafblutinjektionen kaum.

Vielleicht konnte man erwarten, daß es möglich wäre, durch Verwendung von größeren Quantitäten als die obengenannten 2 g noch bessere Resultate zu erzielen; dies ist aber jedenfalls nicht in größerem Umfange der Fall.

Wie aus der Kurve 3 zu ersehen ist, versuchte ich durch Injektion von 2 ganzen Nieren den Hämolysingehalt noch höher hinaufzutreiben, erhielt aber das entgegengesetzte Resultat; dasselbe zeigt auch die Kurve 11, wo ich 8 g Leber injizierte.

Auch bei den ersten Injektionen, also bei der ersten Auslösung der Hämolysinbildung, sind wahrscheinlich kleinere Quantitäten wirksamer als große. So injizierte ich z. B. bei einem Kaninchen, das später nach Injektionen der filtrierten Emulsion von 1 g und weniger Organ reichliche Mengen Ms-Schafhämolysin produzierte, die filtrierte Emulsion von 8 g Leber, ohne hierdurch nach 10 Tagen eine Steigerung konstatieren zu können, und ebensowenig bekam ich eine solche bei einem anderen Kaninchen, das sich ebenfalls später als hervorragender Hämo-

lysinbildner erwies, nach einer Injektion von 2 Nieren und 2 Nebennieren. Hiergegen könnte man sagen, daß die Hämolysinbildung nach großen Dosen möglicherweise sehr verspätet eintritt, und nach dem, was vorausgeht, gebe ich diese Möglichkeit zu; es sieht jedoch so aus, als wären große Quantitäten für das Hervorbringen des Hämolysins unvorteilhaft.

Die Spezifizität des Ms-Schafhämolysins. Ist es vielleicht ein Nebenhämolysin?

Wie schon oben in der Einleitung hervorgehoben worden ist, sind die hämolytischen Sera ebensowenig wie andere Immunsera vom serologischen Gesichtspunkte aus streng spezifisch, sondern ihre Spezifizität ist nur von relativer, quantitativer Art. Ich erwähnte ebenda als Beispiel, wie man durch Schafblutinjektionen Sera bekommt, die nicht nur Schafblut auflösen, sondern auch Ochsenblut, obgleich in der Regel, aber nicht immer, schwächer. Die Bildung solcher heterologer Nebenhämolysine, wie in diesem Beispiele das Ochsenhämolysin eines ist, könnte vielleicht zu der Annahme veranlassen, daß auch das Ms-Schafhämolysin ein ähnliches Nebenhämolysin wäre, d. h. ein Nebenhämolysin im Vergleich zu — in diesem Falle, wo Meerschweinchenorgane injiziert worden sind — Meerschweinchenhämolysin als Haupthämolysin.

Um dies zu prüfen, habe ich drei von meinen Ms-schafhämolytischen Seren einerseits gegenüber Schafblut, andererseits gegenüber Meerschweinchenblut untersucht. Da Meerschweinchenserum bei der Hämolyse von Meerschweinchenblutkörperchen ein schlechtes Alexin ist, habe ich hierbei auch Kaninchenalexin benutzt. Serum 1 stammt von einem Kaninchen, das mit durchgespülten, blutfreien Organen injiziert ist, während die anderen Sera von Tieren gewonnen sind, die mit Organen von nur verbluteten, nicht aber durchgespülten Meerschweinchen behandelt sind. Da die Sera 2 und 3 nahe übereinstimmende Resultate gaben, teile ich nur das Protokoll des einen von diesen mit.

Tabelle II.

MsSh = Ms-schafhämolytisches, bei 56° inaktiviertes Serum; Mbl = 5 %ige Meerschweinchenblutaufschwemmung (gewaschenes Blut); Ns = normales Kaninchenserum. Übrige Abkürzungen wie in Tabelle I. Alle Röhrchen zu gleichem Volum aufgefüllt.

Serum 1.	0,001	MsSh	+ 0,10	Ms	+ Sbl	××××
	0,0006	„	+ 0,10	„	+ „	×××
	0,0004	„	+ 0,10	„	+ „	×
	0,20	„	+ 0,10	„	+ Mbl	×
	0,01	„	+ 0,10	„	+ „	0
	0,03	„	+ 0,10	Ns	+ „	××××
	0,01	„	+ 0,10	„	+ „	×
Serum 2.	0,005	MsSh	+ 0,10	Ms	+ Sbl	××××
	0,003	„	+ 0,10	„	+ „	××
	0,10	„	+ 0,10	„	+ Mbl	××××
	0,05	„	+ 0,10	„	+ „	××
	0,007	„	+ 0,10	Ns	+ Sbl	××××
	0,005	„	+ 0,10	„	+ „	××(×)
	0,004	„	+ 0,10	„	+ „	××
	0,04	„	+ 0,10	„	+ Mbl	××××
	0,02	„	+ 0,10	„	+ „	××
			0,10	„	+ „	0
			0,10	Ms	+ Sbl	0

Wenn man die obenstehenden Protokolle vergleicht, so sieht man, daß das Serum 2 viel mehr Meerschweinchenhämolysin enthält als das Serum 1, was aber zu erwarten war, nachdem, wie schon gesagt, das Tier des Serums 2 mit nicht durchgespülten und also bluthaltigen Organen behandelt worden ist, während das Serum 1 von einem Tiere stammt, das ich mit blutfreien Organen injiziert habe. In beiden Fällen tritt jedoch klar hervor, daß das Schafhämolysin das andere weit überragt, und im Serum 1, bei dessen Hervorrufen Meerschweinchenblut, soweit möglich, ausgeschlossen war, ist das Überwiegen des erstgenannten Hämolysins enorm.

Das erhaltene Ms-Schafhämolysin ist also nicht als ein Nebenhämolysin zum Meerschweinchenhämolysin aufzufassen, sondern im Vergleich zu diesem ist es das Haupthämolysin.

Werden gleichzeitig auch andere Hämolysine gebildet?

Wenn man vom Meerschweinchenhämolysin absieht, das, wie erwartet war und wie eben nachgewiesen worden ist, in kleinen Mengen bei meinen Immunisierungen auftritt, muß man sich fragen, ob noch andere Hämolysine gleichzeitig gebildet werden. Es ist ja so z. B. mit den gewöhnlichen, durch Blutinjektionen erhaltenen schafhämolytischen Sera, daß sie, wie schon erwähnt, auch Ochsenblut auflösen.

Es war deshalb sehr naheliegend, die von mir gewonnenen Ms-schafhämolytischen Sera mit den gewöhnlichen, durch Bluteinjektionen erzeugten schafhämolytischen Sera in dieser Beziehung zu vergleichen und also zu prüfen, ob auch jene Ochsenblut auflösten. Das habe ich bei 10 Ms-schafhämolytischen Sera gemacht und dazu auch ihr Verhalten gegenüber Schweineblut untersucht. Als Ergebnisse kann ich mitteilen, daß nach Meerschweinchenorganinjektionen weder Ochsenblut- noch Schweinebluthämolysin gebildet werden. Hierin unterscheiden sich also die Ms-schafbluthämolytischen Sera von der anderen Kategorie, und besitzen jene also eine größere Spezifizität als diese.[1])

Sind Ms-Schafbluthämolysine auch durch Injektionen von Organen anderer Tiere, z. B. durch Ochsenorganinjektionen, zu erhalten?

Da das Kaninchenserum normalerweise ja ein wenig Ms-Schafhämolysin, dessen Zweck uns ganz unbekannt ist, enthält, und da Meerschweinchenorgane die Fähigkeit haben, große Mengen hiervon hervorzurufen, könnte man sich vielleicht vorstellen, daß die Produktion von Schafhämolysin eine gewöhnliche Reaktionsform des Kaninchenorganismus wäre, und daß man also durch Injektionen von Organen aller möglichen Tiere Schafhämolysinproduktion auslösen könnte.

Ich habe deswegen einige Injektionen von Ochsenorganemulsionen bei Kaninchen vorgenommen. Ich wählte Ochsenorgane, da es mir wahrscheinlich erschien, daß, wenn ich nicht Schaforgane benutzen wollte, eben Ochsenorgane die besten Aussichten darböten, Schafhämolysin zu geben. Die Technik war dieselbe wie bei der Zubereitung bei Injektionen von Meerschweinorganemulsionen und die Dosierung dieselbe.

Zwei Kaninchen injizierte ich also Ochsenorganemulsionen. Das eine bekam Nieren-, das andere Nebennierenemulsion, und jedes Tier erhielt zwei Injektionen mit einem Intervall von 3 Wochen. Nach diesen Injektionen wurden die

[1]) Obgleich in einigen Ms-schafhämolytischen Sera eine sehr unbedeutende Steigerung des Schafblutagglutinins vielleicht vorkam, habe ich jedoch bei einigen solchen hochwertigen (2000- bis 5000wertigen) Sera, die speziell in bezug auf ihren Agglutiningehalt untersucht wurden, keine Erhöhung des Schafblutagglutinins konstatieren können.

Sera dieser Tiere mehrmals untersucht, ohne aber eine Steigerung des Schafhämolysins aufzuweisen. Nachher wurde beiden Tieren Meerschweinchenorganemulsion ($^1/_2$ Niere bei jedem) injiziert; sie antworteten darauf mit Steigerungen der Serumwerte in dem einen Falle von 10 zu 200, im anderen Falle zu 300. Die Tiere hatten also die Fähigheit, Ms-Schafbluthämolysin zu bilden.

Ohne die Möglichkeit bestreiten zu wollen, daß man durch eine größere Serie Ochsenorganemulsionen vielleicht ein wenig Schafhämolysin hätte erhalten können, ist es doch hiermit ohne weiteres deutlich, daß die Ochsenorgane (Niere und Nebenniere) keine Fähigkeit haben, Schafbluthämolysin zu erzeugen, die mit derjenigen der Meerschweinchenorgane zu vergleichen ist. Damit ist auch bewiesen, daß das Schafhämolysin nicht als eine nach allen Organinjektionen auftretende Reaktion des Organismus aufgefaßt werden kann.

Selbstverständlich will ich hiermit nicht verneinen, daß möglicherweise Schafhämolysin auch durch Organe anderer Tiere als desjenigen, das ich untersucht habe, oder durch andere Stoffe ausgelöst werden kann. Wenn dies der Fall wäre, so würde dies nicht merkwürdiger sein, als die schon mehrmals erwähnte Eigentümlichkeit, daß gewöhnliches Schafbluthämolysin auch durch mehrere Blutarten, nämlich nicht nur durch Schafblut, sondern auch durch Ochsenblut und Ziegenblut, erzeugt werden kann.[1])

Wie verhält sich das Ms-Schafhämolysin den Meerschweinchenorganen, d. h. seinem „Antigen", gegenüber?

Schon oben ist gesagt worden, daß das Ms-Schafhämolysin von Schafblutkörperchen gebunden wird; wird denn dasselbe

[1]) Spätere Untersuchungen hierüber, von meinem Assistenten Dr. Widén und mir ausgeführt, haben ergeben, daß auch Nieren (andere Organe nicht geprüft) von Pferden, und besonders von Katzen, nicht aber von Ratten, dieselbe Wirkung wie Meerschweinchennieren ausüben. So habe ich z. B. eine Steigerung des Serumwertes in einer Woche von 20 bis 1000 nach einer einzigen intravenösen Injektion von $^1/_2$ ccm filtrierter Katzennierenemulsion (20 g Katzenniere zu 10 g 0,8%iger NaCl-Lösung) gesehen. — Nach Injektionen von Brauereihefe (in Analogie mit den Collinsschen oben referierten Versuchen) bekommt man dagegen keine Schafhämolysinbildung, ebensowenig wie nach Injektionen von Typhuskulturen, und auf der anderen Seite wirken die Ms-schafhämolytischen Sera nicht auf Typhusbacillen.

auch von den Meerschweinchenorganen getan? Das sollte man jedenfalls erwarten, da ja die Erfahrung uns zeigt, daß die Bildung und Bindung von Antikörpern durch eine Lösung oder Aufschwemmung im allgemeinen zusammen auftreten. Wie also Schafblutkörperchen das durch Schafblutinjektionen hervorgerufene Hämolysin binden, so sollten auch die Meerschweinchenorgane das durch deren Injektion erzeugte Ms-Schafhämolysin binden. Sofern man nun Meerschweinchenniere für die Bindungsversuche verwendet, wird auch diese Erwartung erfüllt; in diesem Falle erhält man nämlich immer Bindung zwischen Hämolysin und Meerschweinchenorgan; nimmt man aber Meerschweinchenleber, so erhält man Resultate, die mit der obenerwähnten Erfahrung betreffs Bildung und Bindung von Antikörpern nicht übereinstimmen.

Zuerst werde ich nun über die hierhergehörigen Nieren-, dann über die Leberversuche berichten.

Die Nierenversuche waren, wie Tabelle III zeigt, angeordnet.

Bei Parallelversuchen, wo die resp. Sera, Nierenaufschwemmungen und Alexin bei 4° anstatt 37° gelassen wurden, und in solchen, wo das Alexin erst bei dem Blutzusatz zugefügt wurde, wurde das MsSh allerdings auch neutralisiert, aber nicht so stark wie oben, so daß z. B. bei der 5fachen hämolytischen Dosis (0,010) beinahe vollständige Hämolyse (×××) eintrat. Da es vonnöten war, einige (z. B. die drei ersten) Röhrchen mehrmals zu waschen, um sog. Komplementablenkung sicher zu vermeiden, sind alle Röhrchen des Parallelismus wegen derselben Behandlung unterzogen worden. — OchsN und MN übten allein gar keine Einwirkung auf die Blutkörperchen aus.

Viele solche Versuche sind nun angestellt worden und haben im Prinzip immer dasselbe Resultat gegeben, so weit es das Verhältnis zwischen Meerschweinchenniere, Ms-Schafhämolysin und Ochsenhämolysin betrifft, obgleich bei Verwendung von verschiedenen Sera und noch mehr von Nieren verschiedener Meerschweinchen der Grad der Bindung zwischen Meerschweinchenniere und Ms-Schafhämolysin einigermaßen gewechselt hat. Ebenso konstant hat es sich ergeben, daß die Absorption von Ms-Schafhämolysin durch Ochsenniere keine spezifische ist, sondern alle Sera, die ochsenhämolytischen Sera natürlich ausgenommen, ungefähr gleichmäßig betrifft und also als ein mechanisches Mitreißen aufzufassen ist; viele Ochsennieren entbehren auch ganz dieser Eigenschaft (s. z. B. Tab. VI).

Tabelle III.

4 g Meerschweinchenniere wurden zermahlen, in 20 ccm 0,8%iger NaCl-Lösung aufgeschwemmt und dann durch doppeltes, dichtes Kompreßtuch filtriert, das Filtrat = MN; mit 4 g Ochsenniere wurde in ganz derselben Weise verfahren, dieses Filtrat = OchsN. Gewöhnliches schafhämolytisches Kaninchenimmumserum = Sh; ochsenhämolytisches Kaninchenimmunserum = OchsS. Ochsbl = 1 ccm 5%ige Ochsenblutaufschwemmung. Übrige Abkürzungen wie vorher. Alle Gläser wurden mit 0,8%igem NaCl bis zum gleichen Volum aufgefüllt.

0,002	ccm	MsSh	+ 0,5	ccm	MN	+ 0,10	ccm	Ms	40 Min. 37°	Dann Zentrifugieren, bis helle, opalescierende Flüssigkeit erhalten wurde; nur diese wurde benutzt.	+ Sbl	1 St. 37°	0	Zentrifugieren und Waschen der Blutkörperchen 6 mal mit 0,8%iger NaCl-Lösung, dann wurden die Blutkörperchen in jedem Röhrchen in 1 ccm NaCl-Lösung aufgeschwemmt, 0,10 Ms zugefügt und die Röhrchen 1 St. bei 37° gelassen.	0
0,006	„	„	+ 0,5	„	„	+ 0,10	„	„			+ „		0		0
0,010	„	„	+ 0,5	„	„	+ 0,10	„	„			+ „		0		0
0,002	„	„	+ 0,5	„	OchsN	+ 0,10	„	„			+ „		0		××
0,006	„	„	+ 0,5	„	„	+ 0,10	„	„	„	„	+ „	„	0	„	××××
0,010	„	„	+ 0,5	„	„	+ 0,10	„	„			+ „		0		××××
0,0002	„	Sh	+ 0,5	„	MN	+ 0,10	„	„			+ „		0		×
0,0006	„	„	+ 0,5	„	„	+ 0,10	„	„	„	„	+ „	„	0	„	××
0,0010	„	„	+ 0,5	„	„	+ 0,10	„	„			+ „		0		××××
0,0002	„	„	+ 0,5	„	OchsN	+ 0,10	„	„			+ „		0		××
0,0006	„	„	+ 0,5	„	„	+ 0,10	„	„	„	„	+ „	„	0	„	××××
0,0010	„	„	+ 0,5	„	„	+ 0,10	„	„			+ „		0		××××
0,004	„	OchsS	+ 0,5	„	MN	+ 0,10	„	„			+ Ochsbl		0		××××
0,012	„	„	+ 0,5	„	„	+ 0,10	„	„	„	„	+ „	„	0	„	××××
0,020	„	„	+ 9,5	„	„	+ 0,10	„	„			+ „		0		××××
0,004	„	„	+ 0,5	„	OchsN	+ 0,10	„	„			+ „		0		0
0,012	„	„	+ 0,5	„	„	+ 0,10	„	„	„	„	+ „	„	0	„	××××
0,020	„	„	+ 0,5	„	„	+ 0,10	„	„			+ „		0		××××
0,001	„	MsSh	+ 0,5	„	Sbl	+ 0,10	„	„							×××
0,002	„	„	+ 0,5	„	„	+ 0,10	„	„							××××
0,0001	„	Sh	+ 0,5	„	„	+ 0,10	„	„							×××
0,0002	„	„	+ 0,5	„	„	+ 0,10	„	„							××××
0,003	„	OchsS	+ 0,5	„	Ochsbl	+ 0,10	„	„							×××
0,004	„	„	+ 0,5	„	„	+ 0,10	„	„							××××

Betreffs des Schafbluthämolysins weist Tabelle III eine geringe Andeutung zu, wie es scheint, spezifischer Bindung mit Meerschweinchenniere auf; ähnliches habe ich oft konstatieren können; nicht selten kommt es aber vor, daß jede Spur einer solchen Bindung fehlt (z. B. in Tabelle VI).

Um nun so weit wie möglich der Bemerkung zu entgegnen, daß die Abnahme des Ms-Schafhämolysins in diesen Versuchen vielleicht auf das Vorkommen anderer Immunsubstanzen in Sera, wie z. B. des Präcipitins, und vom Mitreißen des Ms-Schafhämolysins durch die Vereinigung, z. B. des Präcipitins mit Präcipitinogen, beruhe, habe ich sowohl Ms-Schafhämolysin als gewöhnliches Schafhämolysin an Schafblutkörperchen fixieren lassen, dann die sensibilisierten Blutkörperchen abzentrifugiert und mehrmals mit 0,8% NaCl gewaschen, um endlich die Hämolysine durch $^n/_{200}$ in 0,8% NaCl gelöste NaOH nach Rondoni[1]) freizumachen. Auch die so gereinigten Hämolysine haben sich (nach Neutralisation des NaOH) ganz ähnlich wie die ursprünglichen, in den Sera befindlichen Hämolysine verhalten.

Aus diesen Ergebnissen geht also hervor, daß einerseits Meerschweinchenniere, nicht aber Ochsenniere Ms-Schafhämolysin bindet, während andererseits Meerschweinchenniere Ochsenhämolysin gar nicht beeinflußt. Hierdurch bekommt die Bindung von Ms-Schafhämolysin durch Meerschweinchenniere das Aussehen einer spezifischen Bindung.

Um das Verhalten auch einiger anderer Tierzellen zu Ms-Schafhämolysin zu prüfen, habe ich Nieren von Pferden, Ratten und Katzen in dieser Beziehung untersucht. Die Versuchsanordnung ist dabei ganz dieselbe geblieben wie oben, und als Resultat habe ich gefunden, daß Katzenniere ebenso stark wie Meerschweinchenniere, Pferdeniere deutlich aber weniger stark und Rattenniere gar nicht das betreffende Hämolysin bindet, was alles in Tabelle VI, S. 110 veranschaulicht ist. Es soll hier hervorgehoben werden, daß Injektion von Katzen- und Pferdeniere auch Hämolysin für Schafblut erzeugt (s. Bem. S. 97).

---

[1]) Rondoni, Über den Einfluß der Reaktion auf die Wirkung hämolytischer Sera. Zeitschr. f. Immunitätsforsch. u. experim. Ther. 7, 1910.

Wenn aber also Bildung und Bindung von Antikörpern bei der Meerschweinchenniere einander folgen, so ist, wie schon oben angedeutet worden ist, dies nicht der Fall, wenn man anstatt Niere Leber benutzt; dann findet man nicht selten Meerschweinchenlebern, die allerdings Ms-Schafhämolysinbildung hervorrufen, ohne aber das genannte Hämolysin zu binden.

Da dies Ergebnis mit Hinsicht auf die sog. Seitenkettentheorie von Interesse ist, werde ich hier einen solchen Versuch mitteilen. (Tabelle IV, S. 103.)

In Parallelversuchen, wo die resp. Sera, die Leberaufschwemmung und das Alexin bei 4° anstatt 37° gelassen wurden, ebenso wie in solchen, wo das Alexin erst bei dem Blutzusatz zugefügt wurde, trat in den Röhrchen mit 3 und 5fachen hämolytischen Dosen schon während des ersten Aufenthaltes bei 37° nach dem Blutzusatze erhebliche, wenn auch nicht immer vollständige Hämolyse ein. ML allein übte gar keine Einwirkung auf die Blutkörperchen aus.

Von der in diesem Versuche angewandten Leberemulsion wurde $^1/_2$ ccm oder dieselbe Dosis, die jedem Röhrchen bei dem Bindungsversuche zugesetzt wurde, einem Kaninchen intravenös injiziert, dessen Serum unmittelbar vor der Injektion in Dosis von 0,40 ccm vollständige, in Dosis von 0,10 ccm sehr schwache Hämolyse (×) gab. 11 Tage nach der Injektion hämolysierte das Serum desselben Kaninchens vollständig dieselbe Blutmenge in Dosis von 0,015, und der Serumwert war also von 2,5 bis auf 66 gestiegen.

Wie aus der Tabelle hervorgeht, werden das Ms-Schafhämolysin ebensowenig wie das Ochsenhämolysin durch die Leberemulsion gebunden. Auch hier wird ein wenig des gewöhnlichen Schafhämolysins durch die Emulsion mitgerissen, und es ist hierbei ganz gleichgültig, ob die Versuche bei 0 oder 37° vorgenommen worden sind; die Resultate bleiben dieselben. Daß dies nicht davon abhängt, daß Substanzen, die die Bindung verhindern, im Gemische vorkommen, zeigen die Röhrchen 10 bis 15, wo die im Gemische befindlichen Hämolysine von den hier zugesetzten Blutkörperchen gebunden worden sind.

Ich habe eine Menge solcher Leberversuche mit genau demselben Resultate vorgenommen. Bei Verwendung einiger Lebern habe ich indessen deutliche, obgleich immer unbedeutende Abnahme (ungefähr eine einfache total hämolytische Dosis) des Ms-Schafhämolysins gesehen, die am stärksten da

hervortrat, wo solche Sera, die durch Injektionen ausschließlich mit Leberemulsion erzeugt worden waren, angewandt wurden. Da Parallelversuche betreffs der Einwirkung einer und derselben Leberemulsion einerseits auf ausschließlich durch Leberemulsion, andererseits auf ausschließlich durch Nierenemulsion hergestellte Sera ergaben, daß die Abnahme am größten bei der erstgenannten Kombination war, scheint es wahrscheinlich, daß hierbei ein Mitreißen durch Organpräcipitinogen eine Rolle spielt, wie Dehne und Hamburger[1]), Kraus und Přibram[2]), v. Eisler und Tsuru[3]) bei anderen Kombinationen von Antigenen und Antikörpern es gesehen haben. Allerdings habe ich nach Beimischen von anderen Antikörpern zur Kombination Leberemulsion-MsSh-Alexin eine Abnahme auch der so zugefügten Antikörper nicht beobachten können, das braucht aber nicht notwendigerweise vorzukommen. Wie v. Eisler und Tsuru bewiesen haben, ist es nämlich zwar die Regel, daß von zwei in einem Serum befindlichen Antikörpern durch Zusatz von Präcipitin ein Abnahme bei beiden bewirkt wird; aber es kommt auch vor, daß die Abnahme nur bei dem einen eintritt, wodurch das Phänomen das Aussehen einer Spezifizität bekommt (S. 618 bei v. Eisler und Tsuru[3]).

Wie dem auch sei, so ist es doch durch diejenigen Versuche, wo keine Spur von Bindung zwischen Leberemulsion — „Antigen" — und Ms-Schafhämolysin vorkommt, bewiesen, daß Antikörperbildung ohne Bindung zwischen sog. Antigen und Antikörper erzeugt werden kann und daß also die Bindung für das Auslösen der Antikörperbildung nicht notwendig ist. Es ist also auch deutlich, daß die Anschauung, nach der die Antikörperbildung auslösende und die Antikörper bildende Substanz identisch sind, hier nicht

---

[1]) Dehne und Hamburger, Wiener klin. Wochenschr. Zit. nach Kraus und Přibram, Centralbl. f. Bakt. 39.

[2]) Kraus und Přibram, Über Beziehungen der Immunkörper zur präcipitinogenen Substanz des Blutserums (Bakterienagglutininen). Centralbl. f. Bakt. Orig. 39.

[3]) v. Eisler und Tsuru, Über den Zusammenhang zwischen Präcipitinogen und Antikörper. Zeitschr. f. Immunitätsforsch. 6.

Tabelle IV.

2 g Meerschweinchenleber wurden zerkleinert, in 10 ccm 0,8 %iger NaCl-Lösg. aufgeschwemmt und dann durch doppeltes, dichtes Kompreßtuch filtriert; das Filtrat = ML. Übrige Abkürzungen wie oben. Alle Röhren mit 0,8 % NaCl bis zum gleichem Volum ausgefüllt.

1.	0,004 ccm	MsSh	+ 0,5 ccm	ML	+ 0,10 ccm	Ms	40 Min. 37°	Dann Zentrifug. bis helle opalescierende Flüssigkeit erhalten wurde; nur diese wurde benutzt	+ Sbl	1 Std. 37°	0	Zentrifugieren und Waschen der Blutkörperchen 4 mal mit 0,8 %ig. NaCl-Lösung, dann wurden die Blutkörperch. in jedem Röhrchen in 1 ccm NaCl-Lösung aufgeschw., 0,1 ccm Ms zugefügt und die Röhren 1 Std. bei 37° gelassen.	××××
2.	0,012 „	„	+ 0,5 „	„	+ 0,10 „	„			+ „		0		××××
3.	0,020 „	„	+ 0,5 „	„	+ 0,10 „	„			+ „		0		××××
4.	0,0005 „	Sh	+ 0,5 „	„	+ 0,10 „	„			+ „		0		×××(×)
5.	0,0015 „	„	+ 0,5 „	„	+ 0,10 „	„	„	„	+ „	„	0	„	××××
6.	0,0025 „	„	+ 0,5 „	„	+ 0,10 „	„			+ „		0		××××
7.	0,0055 „	OchsS	+ 0,5 „	„	+ 0,10 „	„			+ Ochsbl		0		××××
8.	0,0165 „	„	+ 0,5 „	„	+ 0,10 „	„	„	„	+ „	„	0	„	××××
9.	0,0275 „	„	+ 0,5 „	„	+ 0,10 „	„			+ „		0		××××
10.	0,004 „	MsSh	+ 0,5 „	„	+ 0,10 „	„		+ Sbl	+ Sbl [1]		0		0
11.	0,012 „	„	+ 0,5 „	„	+ 0,10 „	„		+ „	+ „		0		0
12.	0,020 „	„	+ 0,5 „	„	+ 0,10 „	„		+ „	+ „		0		0
13.	0,0005 „	Sh	+ 0,5 „	„	+ 0,10 „	„		+ „	+ „		0		0
14.	0,0015 „	„	+ 0,5 „	„	+ 0,10 „	„		+ „	+ „		0		0
15.	0,0025 „	„	+ 0,5 „	„	+ 0,10 „	„		+ „	+ „		0		0
16.	0,003 „	MsSh	+ 0,5 „	„ Sbl	+ 0,10 „	„							×××
17.	0,004 „	„	+ 0,5 „	„	+ 0,10 „	„							××××
18.	0,0004 „	Sh	+ 0,5 „	„	+ 0,10 „	„	1 Std. 37°						×××
19.	0,0005 „	„	+ 0,5 „	„	+ 0,10 „	„							××××
20.	0,0050 „	OchsS	+ 0,5 „	„ Ochsbl	+ 0,10 „	„							×××
21.	0,0055 „	„	+ 0,5 „	„	+ 0,10 „	„							××××

[1]) Nur die Blutkörperchen, die Flüssigkeit weggegossen.

zutrifft und also jedenfalls keine allgemeine Gültigkeit bei der Erklärung der Antikörperbildung beanspruchen kann.

Von denjenigen, die jene Anschauung hegen, d. h. von den Anhängern der sog. Seitenkettentheorie ist gegen die Beweiskraft derartiger Bindungsversuche wie die obenstehenden, in anologen Fällen gesagt worden[1]), daß der Organismus viel schärfer reagiert als dies in unseren Bindungsversuchen zutage tritt und daß also Antikörperbildung durch solche winzige Mengen hervorgerufen werden kann, daß sie durch Bindungsversuche gar nicht entdeckt werden können. Dabei hat man auf die bekannten Immunisierungsversuche von Friedberger und Dorner[2]) mit minimalen Blutquantitäten hingewiesen.

Wenn dieser Einwand auf unseren Fall übertragen wird, so würde man also behaupten, daß in der Leberemulsion zwar eine genügende Menge Antigen vorhanden ist um Antikörperbildung auszulösen, zu wenig aber, um eine Bindung nachzuweisen.

Für eine solche Auffassung, daß der Organismus ein viel empfindlicheres Reagens sei als der Bindungsversuch, hat man aber, so weit es die Hämolyse betrifft, jedenfalls bisher keine bindenden Beweise geliefert, denn wenn die sog. Beweise genauer untersucht werden, erhellt daraus, daß sie entweder genau das Gegenteil oder wenigstens die Wahrscheinlichkeit des Gegenteils darlegen, wie ich unten zeigen werde.

Als Hauptbeweis werden beinahe immer die obengenannten Versuche von Friedberger-Dorner angeführt. Laut der Angabe dieser Verfasser ist es ihnen nämlich gelungen, durch Injektionen von „1 bis $^1/_2$ mg einer 5%igen Erythrocytenaufschwemmung" „die normale geringe hämolytische Kraft des Kaninchenblutes für Ziegenblut auf das 5 bis 20fache des Normalwertes zu steigern"; dies geht jedoch aus ihren Protokollen gar nicht hervor. In diesen Protokollen, die man in der Dissertation Dorners[3]) findet, vermißt man allerdings

[1]) H. Sachs, Hämolysine und cytotox. Sera in: Lubarsch-Ostertags Ergebnisse 11, 1, S. 552.

[2]) Friedberger und Dorner, Über die Hämolysinbildung durch Injektion kleinster Mengen von Blutkörperchen usw. Centralbl. f. Bakt. Orig. 38.

[3]) Georg Dorner, Experimentelle Beiträge zur Kenntnis der Hämolyse. Diss. Königsberg i. Pr. 1905.

vollständig jede Angabe darüber, wie groß die normalen Schwankungen des Ziegenhämolysins sind, die im Serum ein und desselben Kaninchens zu verschiedenen Zeitpunkten vorkommen können, aber man sieht doch, daß unter den normalen Kaninchen, die betreffs ihres Gehalts an normalem Ziegenblut-hämolysin untersucht sind, dieser von 0,25 ccm „Spur" (S. 11) bis 0,05 ccm komplette Hämolyse (S. 18) variieren kann. Da nun im Versuch 3 (S. 15), um das Feststellen der zur Erzeugung von Hämolysinbildung erforderlichen Minimaldosen, die Serumwerte der injizierten Kaninchen von geringeren bis höchstens 0,05 ccm für komplette Hämolyse gestiegen sind, so liegt also diese Erhöhung ganz innerhalb der Grenzen der normalen Schwankungen und kann ebensogut als eine solche Schwankung aufgefaßt werden wie als eine Folge der Injektionen. Die unterste Grenze von Ziegenblutkörperchen, durch die man, soweit die Protokolle zeigen, eine über die normalen Schwankungen hinausgehende Hämolysinproduktion erzielen kann, ist 0,02 ccm einer 5%igen Erythrocytenaufschwemmung, und diese Ziffer hat man also anstatt der unbewiesenen 1 bis $^1/_2$ mg einzusetzen.

Da aber Ziegenblut große Mengen Immunkörper fixiert — bisweilen 100mal seine eigene lösende Dosis, bisweilen mehr, bisweilen weniger, je nach den angewandten Seren, und also 0,02 ccm 5%iges Blut ungefähr so viel Immunkörper bindet, wie für die komplette Auflösung von 2 ccm 5%igem Blut ausreicht — muß es augenscheinlich leicht sein, viel kleinere Blutmengen durch den Bindungsversuch zu entdecken als diejenige, die in den genannten Versuchen beweislich Hämolysinproduktion ausgelöst haben. Demnach ist auch mit allergrößter Wahrscheinlichkeit die Bindungsreaktion in diesem Beispiele schärfer als die Reaktion des Organismus. Auch bei Ochsenblut ist vorhandenen Angaben gemäß die Bindungsreaktion entschieden die schärfere. Bei Besprechung der minimalen Blutmengen, die zur Auslösung von Hämolysinbildung genügen, erwähnt Sachs[1]), daß von Ochsenblut 0,125 ccm intravenös bei Kaninchen hierzu erforderlich ist, während bekanntlich

[1]) H. Sachs, Hämolysine und Cytotoxine des Blutserums in: Handbuch der Technik und Methodik der Immunitätsforschung von Kraus und Levaditi, S. 899.

0,05 ccm = 1 ccm 5%ige Ochsenblutaufschwemmmung eine größere, oft mehrmals größere Dosis bindet als die, welche die letztgenannte Blutquantität vollständig auflöst, und also auch sehr leicht durch Bindungsversuch zu entdecken ist.

Hiermit ist es auch bewiesen, daß die allgemein akzeptierte Auffassung, laut der die Reaktion des Organismus mit Antikörperbildung der Bindungsreaktion überlegen ist, soweit es die Hämolysine betrifft, entweder unrichtig oder wenigstens unbewiesen und unwahrscheinlich ist. Auch für das Schafblut ist die Bindungsreaktion außerordentlich scharf, wenigstens bei den von mir angewandten Sera; wie unten (S. 106) gezeigt werden soll, fixiert Schafblut von diesen Sera ungefähr 140 bis 290mal seine eigene lösende Dosis Immunkörper.

Wenn man nun alle diese Tatsachen betreffs der Bindungsreaktion berücksichtigt, so muß jeder — auch diejenigen, die als Anhänger der sog. Seitenkettentheorie von der Identität der antikörperbildenden und der antikörperbindenden Substanz ausgehen — zugestehen, daß die oben diskutierte Bemerkung gegen die Beweiskraft der hier angestellten Bindungsversuche jede Stütze von Seite der Erfahrung entbehrt und daß also die oben angeführten Leberversuche beweisen, daß die Seitenkettentheorie hier nicht zutrifft.

Vergleich zwischen Ms-Schafhämolysin und gewöhnlichem Schafbluthämolysin.

Es ist schon oben erwähnt worden, daß Ms-schafhämolytisches Serum vom gewöhnlichen durch Schafblutinjektionen erhaltenen schafhämolytischen Serum dadurch abweicht, daß jenes spezifischer ist, indem es Ochsenblut nicht hämolysiert, was dieses dagegen tut. Diese Verschiedenheit hängt ja aber davon ab, daß gewöhnliches schafhämolytisches Serum auch Immunkörper gegen Ochsenblut enthält, während Ms-schafhämolytisches Serum solche entbehrt. Hierdurch wird jedoch natürlich nicht die Möglichkeit ausgeschlossen, daß die in den beiden Serumarten vorkommenden Schafhämolysine oder Immunkörper identisch sein können. Den Schafhämolysinen in beiden Serumarten sind folgende Eigenschaften gemeinsam. Sie vertragen Erwärmung bis 56° $^1/_2$ Stunde, werden in beiden Fällen von Meerschweinchenserum gut, durch Kaninchenserum

weniger gut reaktiviert und durch Schafblutkörperchen sowohl bei 0° bis bei 37° schnell fixiert. Um zu untersuchen, ob sie auch von denselben Receptoren der Blutkörperchen fixiert werden, habe ich einen Versuch angestellt, der nach dem folgenden Plan ausgeführt wurde: Eine bestimmte Menge Schafblutkörperaufschwemmung (10 ccm) wird mit soviel Ms-Schafhämolysin, wie sie aufnehmen konnte, beladen, eine andere ebenso große Menge Blutaufschwemmung mit gewöhnlichem Schafhämolysin gesättigt. Jede von diesen Blutportionen wurde in zwei Teile geteilt, von denen die eine mit Ms-Schafhämolysin, die andere mit gewöhnlichem Schafhämolysin vermischt wurde, um zu sehen, ob das schon aufgenommene Hämolysin das Fixieren des anderen verhinderte. Die nähere Versuchsanordnung geht aus der Tabelle V vor.

Zuerst möchte ich unter Hinweis auf die untenstehende Tabelle V die Aufmerksamkeit der Leser darauf lenken, welche erhebliche Menge Ms-Schafhämolysin von den Schafblutkörperchen fixiert worden sind. Die minimale, totale Hämolyse bewirkende Dosis des Serums war 0,004 ccm. Von 10 ccm Blutaufschwemmung wurden ungefähr 2900 solcher hämolytischer Dosen fixiert, d. h. ungefähr 290 pro Kubikzentimeter, von denen jedoch ein wenig bei den nachfolgenden Waschungen herausgelöst wurde. Auch das gewöhnliche Schafhämolysin wurde in erheblicher, jedoch nicht so großer Menge fixiert wie das andere. Von 1500 hämolytischen Dosen = 0,6 ccm (einfache hämolytische Dosis = 0,0004 ccm) wurden ungefähr 1400 Dosen aufgenommen, was 140 pro Kubikzentimeter tut. Auch hier wurde ein wenig bei den Waschungen freigemacht.

Tabelle V.

Bezeichnungen wie vorher. Einfache hämolytische Dosis des MsSh = 0,004 ccm. Einfache hämolytische Dosis des Sh = 0,0004 ccm; NaCl = 0,8%ige NaCl-Lösung.

A. 0,6 ccm Sh + 29,4 ccm NaCl + 10 ccm Sbl wurden $^1/_2$ Stunde bei 37° gelassen, dann zentrifugiert; die Flüssigkeit hämolysierte in Dosis von 1 ccm und 0,5 ccm mit 0,10 Ms vollständig 1 ccm Sbl, in Dosis von 0,2 ccm nur ××.

B. 4 ccm MsSh + 26 ccm NaCl + 10 ccm Sbl wurden $^1/_2$ Stunde bei 37° gelassen, dann zentrifugiert; die Flüssigkeit hämolysierte mit 0,10 Ms in Dosis von 1 ccm gar nicht Sbl. Zum Bodensatze wurden 36 ccm NaCl + 4 ccm MsSh gefügt und stark geschüttelt, bis die Agglu-

tination gelöst worden war, dann $^1/_2$ Stunde bei 37°, zentrifugiert; diese Flüssigkeit gab in Dosis von 1 ccm mit 0,10 Ms nur sehr schwache Hämolyse (×) von Sbl, weshalb noch einmal 36 ccm NaCl + 4 ccm MsSh den Blutkörperchen zugesetzt wurden; Schütteln, $^1/_2$ Stunde bei 37°; nach Zentrifugieren hämolysierte jetzt 0,5 ccm vollständig und 0,1 sehr schwach mit 0,10 Ms Sbl.

Die Blutkörperchen A und B, die also mit Hämolysin gesättigt waren, wurden, nachdem durch Schütteln die Agglutination aufgehoben war, mit NaCl-Lösung gewaschen, wobei ein wenig Hämolysin sich herauslöste, dann wurde jede Portion in 10 ccm NaCl aufgeschwemmt und folgende Proben wurden jetzt ausgeführt.

1.	0,05 ccm	Sh	+	14,95 ccm	NaCl	+	5 ccm	Blut	A	$^1/_2$ Std. 37°, dann wurde zentrifugiert und die Flüssigkeiten wurden auf ihren Hämolysingehalt zusammen mit 0,10 Ms in folgenden Dosen und mit folgendem Resultat geprüft.
2.	0,05 „	„	+	14,95 „	„	+	5 „	„	B	
3.	0,05 „	„	+	14,95 „	„	+	5 „	Sbl		
4.	2 ccm	MsSh	+	13 „	„	+	5 „	Blut	A	
5.	2 „	„	+	13 „	„	+	5 „	„	B	
6.	2 „	„	+	13 „	„	+	5 „	Sbl		

Angewandte Dosen	2 ccm	1 ccm	0,5 ccm	0,1 ccm	0,05 ccm
1.	××××	××××	××××	×	0
2.	××××	××××	××××	××	0
3.	×××	××	0	0	0
4.	××××	×××	×	0	0
5.	××××	××××	×××	×	0
6.	0	0	0	0	0

Wie aus den wohlbekannten Arbeiten von P. Th. Müller[1]) hervorgeht, werden sehr ungleiche Mengen Antikörper von verschiedenen Seras von gleich großen Antigenquantitäten fixiert, wobei die Affinität der in den Sera vorkommenden Antikörper von einer ganzen Reihe Faktoren beeinflußt wird. Daß die hier untersuchten Hämolysine in bezug auf ihre Fixation voneinander abweichen, ist also nichts Überraschendes. Hierzu hat wahrscheinlich der Umstand mächtig beigetragen, daß das gewöhnliche schafhämolytische Serum bei der Untersuchung schon 3 Monate alt war und in dieser Zeit von 5000 bis 2500 hinuntergegangen war, während das andere Serum frisch und hinsichtlich seines Titers unverändert war.

Die Endresultate sind für die beiden Sera ein wenig verschieden. Die mit gewöhnlichem Schafhämolysin gesättigten

[1]) P. Th. Müller, Über Avidität und Aviditätsbestimmungen bei Antigenen und Antikörpern in Kraus-Levaditis' Handbuch. Erster Ergänzungsband.

Blutkörperchen nehmen nämlich sowohl von gewöhnlichem Schafhämolysin wie von Ms-Schafhämolysin ein wenig mehr auf als die mit Ms-Schafhämolysin gesättigten, was kaum von anderen Umständen abhängen kann, als daß jene bei den Waschungen mehr Hämolysin freigegeben haben als diese. Die Verschiedenheit ist jedoch ganz unbedeutend, und es geht ganz unzweifelhaft aus dem Versuche hervor, daß die Fixierung des einen Hämolysins an die Blutkörperchen die Fixierung des anderen verhindert und umgekehrt, und daß also, um einen Ausdruck der Seitenkettentheorie anzuwenden, die beiden Hämolysine von denselben Receptoren der Blutkörperchen fixiert werden.

Um noch weitere Anhaltspunkte für den Vergleich dieser beiden Hämolysine zu finden, habe ich auch die Bindungsverhältnisse zwischen einigen anderen Tierzellen (als Blutkörperchen) und den genannten Hämolysinen untersucht, wobei ich auch das im Kaninchennormalserum befindliche Normalhämolysin herangezogen habe. (Um dieses Normalhämolysin zu bekommen, habe ich unter mehreren Kaninchen solche ausgewählt, die 20 wertige Sera hatten; wie oben gesagt, der höchste hier beobachtete Normalhämolysingehalt der Kaninchen dem Schafblut gegenüber.)

Die benutzten Tierzellen sind außer den schon vorher in dieser Beziehung geprüften Meerschweinchen- und Ochsennierenzellen die Pferde-, Katzen- und Rattennierenzellen.

Der Versuch ist mehrmals und mit demselben Resultate wiederholt worden.

Betreffs der Bindung von MsSh durch die genannten Organzellen habe ich schon oben darüber gesprochen unter Hinweis auf Tabelle VI. Hier möchte ich deswegen nur darauf aufmerksam machen, daß während die drei Emulsionen von Katzen-, Meerschweinchen- und Pferdenieren vollständig oder beinahe vollständig MsSh binden, sie Sh unbeeinflußt lassen und daß NSh beinahe vollständig, in anderen Versuchen vollständig, sich den Emulsionen gegenüber so verhält wie MsSh.

Nachdem ich im vorhergehenden über die verschiedenen hier angestellten Bindungsversuche berichtet habe, möchte ich noch diese soweit wie möglich analysieren, um zu sehen, welche Schlußfolgerungen man aus denselben hinsichtlich der bindenden Faktoren und der Beziehung der drei Schafhämolysine (MsSh, Sh und NSh) zueinander ziehen kann.

Was nun zuerst die Bindung des Ms-Schafhämolysins und des gewöhnlichen Immunschafhämolysins an Schafblutkörperchen betrifft, so verhindert, wie oben erwähnt, die Bindung des einen dieser Hämolysine an Blutkörperchen das andere Hämolysin, sich mit denselben Blutkörperchen zu binden und umgekehrt, was zu der Schlußfolgerung führt, daß die bindende Substanz der Blutkörperchen in beiden Fällen dieselbe ist; und wenn man dann berücksichtigt, daß die beiden Hämolysine verschiedenen Blutkörperchen gegenüber dieselbe Spezifizität besitzen, scheint es mir wahrscheinlich, daß die bei

Tabelle VI.

Die Emulsionen von Katzen-, Ratten- und Pferdeniere = KN, RN und PN. Diese Emulsionen ebenso wie die Meerschweinchen- (MN) und Ochsennierenemulsionen (OchsN) sind alle genau so bereitet wie MN und OchsN in Tabelle III. Normalhämolytisches Kaninchenserum (auf 56° ½ Stunde erwärmt) = NSh. Übrige Bezeichnungen wie vorher. Alle Röhrchen zum gleichen Volum aufgefüllt.

MsSh	1. 0,0005 MsSh	jedem Röhrchen ½ ccm KN + 0,10 Ms	40 Min. bei 37°, dann zentrifugiert bis helle Flüssigkeit erhalten wurde; nur diese wurde benutzt.	Jedem Röhrchen wurde dann 1 ccm 5%iges Blut (Sbl) zugesetzt und so 1 Std. bei 37° gelassen.	0	Die Röhrchen wurden zentrifugiert, die Bodensätze mit je 3 ccm 0,8% NaCl 1 mal gewaschen (nur die Röhrchen 13, 14 und 16 nebst Kontrolle 1 wurden 4 mal mit je 3 ccm 0,8% NaCl gewaschen); dann wurden die Bodensätze in je 1,5 ccm 0,8% NaCl aufgeschwemmt, 0,10 Ms überall zugefügt und die Röhrchen 1 Std. bei 37° gelassen	0
	2. 0,0015 „				0		0
	3. 0,0025 „				0		0
	4.–6. wie oben	jedem Röhrchen ½ ccm RN + 0,10 Ms			(×)		××××
					(×)		××××
					×		××××
	7.–9. „ „	jedem Röhrchen ½ ccm PN + 0,10 Ms			0		0
					0		0
					0		0
	10.–12. „ „	jedem Röhrchen ½ ccm OchsN + 0,10 Ms			(×)		××××
					××		××××
					×		××××
	13.–15. „ „	jedem Röhrchen ½ ccm MN + 0,10 Ms			0		0
					0		0
					0		(×)
Sh	16. 0,0003 Sh	jedem Röhrchen ½ ccm KN + 0,10 Ms			0		××××
	17. 0,0009 „				(×)		××××
	18. 0,0015 „				×		××××
	19.–21. wie oben	jedem Röhrchen ½ ccm RN + 0,10 Ms			0		××××
					×		××××
					××(×)		—
	22.–24. „ „	jedem Röhrchen ½ ccm PN + 0,10 Ms			0		××(×)
					(×)		××××
					×		××××
	25.–27. „ „	jedem Röhrchen ½ ccm OchsN + 0,10 Ms			0		××××
					××		××××
					0		—
	28.–30. „ „	jedem Röhrchen ½ ccm MN + 0,10 Ms			×		××××
					××		××××
							—

NSh	31. 0,05 NSh	jedem Röhrchen ½ ccm KN + 0,10 Ms	40 Min. bei 37°, dann zentrifugiert bis helle Flüssigkeit erhalten wurde; nur diese wurde benutzt.	Jedem Röhrchen wurde dann 1 ccm 5%iges Blut (Sbl) zugesetzt und so 1 Std. bei 37° gelassen.	0	Die Röhrchen wurden zentrifugiert, die Bodensätze mit je 3 ccm 0,8% NaCl 1 mal gewaschen (nur die Röhrchen 13, 14 und 15 nebst Kontrolle 1 wurden 4 mal mit je 3 ccm 0,8% NaCl gewaschen); dann wurden die Bodensätze in je 1,5 ccm 0,8% NaCl aufgeschwemmt, 0,10 Ms überall zugefügt und die Röhrchen 1 Std. bei 37° gelassen	0
	32. 0,15 „				0		0
	33. 0,25 „				0		××
	34.–36. wie oben	jedem Röhrchen ½ ccm RN + 0,10 Ms			0		××××
					0		××××
					0		××××
	37.–39. „ „	jedem Röhrchen ½ ccm PN + 0,10 Ms			0		0
					0		××
					0		×××
	40.–42. „ „	jedem Röhrchen ½ ccm OchsN + 0,10 Ms			0		××××
					0		××××
					0		××××
	43.–45. „ „	jedem Röhrchen ½ ccm MN + 0,10 Ms			0		0
					0		×
					0		××
OchsS	46. 0,004 OchsS	jedem Röhrchen ½ ccm KN + 0,10 Ms			0		××××
	47. 0,012 „				0		××××
	48. 0,020 „				0		××××
	49.–51. wie oben	jedem Röhrchen ½ ccm RN + 0,10 Ms			0		×××
					0		××××
					0		××××
	52.–54. „ „	jedem Röhrchen ½ ccm PN + 0,10 Ms			0		××××
					(×)		××××
					(×)		××××
	55.–57. „ „	jedem Röhrchen ½ ccm OchsN + 0,10 Ms			0		0
					0		××××
					0		××××
	58.–60. „ „	jedem Röhrchen ½ ccm MN + 0,10 Ms			0		×××
					(×)		××××
					(×)		××××
	61. 0,0005 MsSh	jedem Röhrchen ½ ccm 0,8% NaCl	40 Min. bei 37°		0	jedem Röhrch. 0,10 Ms, dann 1 Std. 37°	××××
	62. 0,0003 Sh				0		××××
	63. 0,05 NSh				0		××××
	64. 0,004 OchsS				0		××××

Die Nierenemulsionen bewirkten allein keine Auflösung weder von Sbl noch Ochsbl. — Die minimalen total hämolytischen Dosen der verschiedenen Sera waren im voraus genau austitriert.

der Bindung wirksamen Faktoren der beiden Sera auch identisch sind.

Fragt man nun weiter, ob die Bindung der Sera an die Meerschweinchen-, Katzen- und Pferdenierenemulsionen mit der Bindung der Sera an Blutkörperchen identisch ist, so kann man diese Frage kaum anders als verneinend beantworten, denn ein Bejahen derselben müßte mit sich führen, teils daß gemeinsame und dazu sehr spezifische Substanzen so verschiedenen Tieren wie Schaf, Katze, Pferd und Meerschweinchen unter Überspringen diesen Tieren nahestehender Arten wie

Ochs und Ratte zukommen würden, teils daß in dem Falle dieselben Emulsionen auch gewöhnliches Schafblutimmunhämolysin binden müßten, was sie aber ja nicht tun. Diese letztgenannte Tatsache beweist auch, daß der bindende Faktor des Serums, der einerseits von den Blutkörperchen, andererseits von den Emulsionen gebunden wird, nicht derselbe, sondern in beiden dieser Kombinationen verschieden ist.

Folglich kann man weder annehmen, daß dieselben Receptoren noch daß dieselben haptophoren Gruppen (um Ausdrücke der Seitenkettentheorie zu verwenden), die die Bindung zwischen Ms-Schafhämolysin und Schafblutkörperchen bewirken, bei der Bindung von diesem Hämolysin und den Emulsionen tätig sind, sondern die Bindung muß hier durch andere Faktoren oder in anderer Weise erfolgen.

Wenn man unter solchen Verhältnissen ein Schema des Ms-Schafhämolysins (in Analogie mit den bekannten Schemata der Seitenkettentheorie) sich bilden wollte, würde dies ein Hämolysin mit jedenfalls zwei, wahrscheinlich mehreren haptophoren Gruppen sein, also ein Antikörper von bisher nie geahnter Kompliziertheit. Hierbei muß man doch bedenken, daß so lange wir, trotz aller Versuche, nicht einmal wissen, ob die tagtäglich beobachtete sog. Bindung zwischen Antigen und Antikörper eine chemische Bindung oder eine Adsorption zwischen Kolloiden ist, alle detaillierten Schemata hierüber, mögen sie aus der Seitenkettentheorie oder anderswoher stammen, nicht viel wert sind.

Obgleich wir also uns zu den obengenannten Bemerkungen betreffs der Bindungsverhältnisse beschränken müssen, so kann andererseits nicht verneint werden, daß diese Bindung eine Reaktion ist, die wie so viele andere, nicht näher gekannten Reaktionen doch dazu dienen kann, Substanzen — hier drei Hämolysine (MsSh, Sh und NSh) — nebeneinander zu charakterisieren.

Diese Hämolysine verhalten sich, wie Tabelle VI ergibt, nicht in derselben Weise den Emulsionen gegenüber, indem das gewöhnliche Schafimmunhämolysin von keiner, die zwei anderen von sowohl Meerschweinchen-, Katzen- als Pferdenierenemulsion gebunden werden. Dies deutet an, daß diese Hämolysine mit jenem nicht artgleich, sondern verschieden sind, was von Inter-

esse ist, da noch so viele Forscher von der Auffassung eingenommen sind, daß das gewöhnliche Schafimmunhämolysin und das Normalschafhämolysin prinzipiell identisch, wenn auch von verschiedener Affinität den Blutkörperchen gegenüber sind.

Ob das Ms-Schafhämolysin und das Normalschafhämolysin des Kaninchenserums dagegen qualitativ identisch und nur quantitativ verschieden sind oder ebenfalls artverschieden, kann selbstverständlich nicht durch diese Reaktion mit Sicherheit festgestellt werden, da ja vielleicht andere Reagenzien Verschiedenheiten hervorbringen können; daß sie doch identisch sind, scheint mir nicht unwahrscheinlich, wenn man nicht nur ihre Übereinstimmung den Emulsionen gegenüber, sondern auch ihre übrigen gemeinsamen Eigenschaften berücksichtigt[1]).

Sekretionsmechanismus.

Über den Mechanismus dieser Sekretion von Ms-Schafhämolysin wissen wir nichts, ebensowenig wie betreffs der Sekretion von anderen Immunsubstanzen. So viel kann jedoch behauptet werden, daß sie nicht in Übereinstimmung mit der sog. Seitenkettentheorie verläuft. Diese fußt bekanntlich auf der Voraussetzung von der Identität der zur Auslösung der Antikörper führenden und der sie bindenden Komponente in den antigenen Lösungen oder Aufschwemmungen. Die Erfahrung, daß antikörpererregende Lösungen beinahe stets diejenigen und vielleicht[2]) nur diejenigen Antikörper hervorrufen, die sich mit dem injizierten Material verbinden, ist der Ursprung dieser Identitätslehre; aber diese Erfahrung kann auch

[1]) Wie schon bemerkt, findet man nicht so sehr selten Meerschweinchensera, die sogar in Dosis von 0,1 ccm 1 ccm 5%iges Schafblut vollständig auflösen. Da nun zermahlene Meerschweinchenorgane bei Kaninchen Schafhämolysin hervorriefen, das mit dem Normalhämolysin übereinstimmte, war es naheliegend zu vermuten, daß auch das bei Meerschweinchen vorkommende obenerwähnte Schafnormalhämolysin durch Zerfalls- oder Umsetzungsprodukte der (lebenden) Organe erzeugt wäre. Versuche, durch Injektion von zermahlenen Meerschweinchenorganen bei Meerschweinchen Erhöhung des Schafnormalhämolysins zu bewirken, haben indessen nur negative Resultate gegeben.

[2]) Ich sage ‚vielleicht', da wir, hauptsächlich für die homologen Antikörpern interessiert, leicht die heterologen und darunter besonders die möglicherweise vorkommenden, das sog. Antigen nicht bindenden Antikörper übersehen.

dadurch erklärt werden, daß die Antikörperbildung und die Antikörperbindung durch zwei verschiedene Substanzen ausgeführt werden, die zusammen in den antikörpererregenden Substanzen vorkommen. Wir müssen uns nämlich erinnern, was man so leicht vergißt, daß die fraglichen Lösungen eine große Menge unbekannter Substanzen enthalten und daß es bisher noch niemals gelungen ist, ein sog. Antigen rein darzustellen, um mit einem solchen Reinprodukt die Bindungsreaktion auszuführen. Nun ist es allerdings so, daß wir auch bei dem Studium des Ms-Schafhämolysins Antikörperbildung und Antikörperbindung oft zusammen gefunden haben, aber Antikörperbildung ohne Bindung ist auch beobachtet worden, und diese Tatsache beweist ja, daß die Bindung nicht, wie es die Seitenkettentheorie verlangt, für die Antikörperbildung notwendig ist.

Dasselbe haben übrigens Bang und ich[1])[2]) anläßlich unserer Hämolysinuntersuchungen gefunden. Vom Urheber der sog. Seitenkettentheorie ist aber diese Auffassung energisch bekämpft worden, was übrigens zu erwarten war, da eine Einräumung in diesem Punkte das Aufgeben der Seitenkettentheorie bedeuten müßte.

Wie der hier beschriebene Sekretionsprozeß des Ms-Schafhämolysins nun gedeutet werden soll, ist zurzeit unmöglich zu sagen; bis auf weiteres bin ich geneigt, ihn als einen Vorgang zu betrachten, der durch eine in den injizierten Zellen befindliche Art von Sekretin hervorgerufen wird, das wie andere Sekretine allerdings eine physiologische Reaktion auslöst, ohne aber in Verbindung mit dem Reaktionsprodukt, in diesem Falle dem Ms-Schafhämolysin, zu treten.

Hauptsächliche Ergebnisse.

Zum Schluß seien die hauptsächlichen Ergebnisse dieser Untersuchung zusammengefaßt.

1. Durch Injektionen von Meerschweinchenorganemulsionen (Leber, Niere, Nebenniere, Hoden, Gehirn), nicht aber von Meerschweinchenblut, wird eine Bildung von Schafhämolysinen ausgelöst.

[1]) Bang und Forssman, Untersuchungen über die Hämolysine. Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 8.

[2]) J. Forssman, Sind das Antigen und die amboceptorfixierende Substanz der Blutkörperchen identisch oder verschieden? Diese Zeitschr. 9.

2. Die so hervorgerufene Hämolysinproduktion ist so kräftig, daß diese hämolytischen Sera in bezug auf ihre Intensität in dieselbe Kategorie, auf dieselbe Stufe, wie die durch Blutinjektionen gewonnenen schafhämolytischen Sera, also mit den der allgemeinen Meinung gemäß wirklichen Immunseren, zu setzen sind.

3. Wie gewöhnliches immunisatorisches Schafhämolysin besteht auch dieses Hämolysin aus Immunkörper und Alexin.

4. Nach halbstündiger Inaktivierung bei 56° wird es sowohl durch Kaninchenserum, noch besser durch Meerschweinchenserum aktiviert.

5. Es verbindet sich mit denselben „Receptoren" der Schafblutkörperchen wie gewöhnliches Immunschafhämolysin.

6. Die Ms-schafhämolytischen Sera sind spezifischer als gewöhnliche schafhämolytische Immunsera, indem sie nicht wie jene Ochsenblut auflösen.

7. Bildung des Ms-Schafhämolysins kann auch stattfinden, ohne daß Bindung zwischen dem angewandten „Antigen" und den hämolytischen Antikörpern vorkommt. Dies beweist, daß die Antikörper bildende und die sie bindende Substanz hier verschieden und nicht identisch sind, und daß dementsprechend die Seitenkettentheorie jedenfalls keine allgemeine Gültigkeit bei der Erklärung der Antikörperbildung beanspruchen kann.

8. Das Ms-Schafhämolysin stimmt nahe mit dem Normalhämolysin überein, und diese beiden Hämolysine sind vom gewöhnlichen, durch Blutinjektionen erhaltenen Schafhämolysin verschieden.

Über die Messung und die Größe der Wasserstoffionenkonzentration des Meerwassers[1]).

Von

Sven Palitzsch.

(Aus dem Carlsberg-Laboratorium, Kopenhagen.)

(Eingegangen am 15. Oktober 1911.)

A. Historische Übersicht.

Angesichts der intensiven Untersuchungen des Meeres und seiner Tier- und Pflanzenwelt hat die Kenntnis der chemischen und physikalischen Beschaffenheit des Meerwassers ein erhöhtes Interesse bekommen, zumal da es sich gezeigt hat, daß die Lebensfunktionen der Tiere des Meeres in hohem Maße durch auch sehr kleine Änderungen der Zusammensetzung und des Zustandes des Meerwassers, in dem die Tiere leben, beeinflußt werden.

Welchen entscheidenden Einfluß die Wasserstoffionenkonzentration auf die physiologischen Prozesse des Meerwassers hat, geht aus den vielen von Loeb über die Eierentwicklung gemachten Versuchen deutlich hervor. Als ein charakteristisches Beispiel[2]) möge angeführt sein, daß in dem verhältnismäßig sauren Wasser aus „Pacific Grove" am Stillen Ozean die parthenogenetische Entwicklung von Strongylocentrotus-

[1]) Wird gleichzeitig in französischer Sprache in den Compt. rend. du Lab. de Carlsberg 10, 78, 1911 veröffentlicht. Eine elementare Darstellung der Bedeutung der Wasserstoffionenkonzentration sowohl als auch der Prinzipien der colorimetrischen Messung der Wasserstoffionenkonzentration findet sich in den von „Conseil permanent international pour l'Exploration de la mer" herausgegebenen Publications de Circonstance Nr. 60, 1911 und in dem Bericht über die Untersuchungsresultate der „Thor"-Expedition.

[2]) J. Loeb, Arch. f. d. ges. Physiol. 118, 186, 1907.

eiern nur sehr mangelhaft gelang, wogegen das Wasser aus „Woods Hole" am Atlantischen Ozean immer eine reichliche Entwicklung von Larven gab. Das Wasser des Atlantischen Ozeans wurde mit Phenolphthalein schwach rot gefärbt, das Wasser des Stillen Ozeans erwies sich dagegen als zu sauer, um mit Phenolphthalein gefärbt werden zu können, konnte aber mit Neutralrot eine orange Farbe annehmen, und Loeb schätzte deswegen die Hydroxylionenkonzentration dieses letztgenannten Wassers zu ca. 10^{-6} (Grammäquivalenten Hydroxyl als Ionen in 1 Liter), mithin die Wasserstoffionenkonzentration zu ca. 10^{-8}. Durch einen Zusatz von einer geringen Menge verdünnter Natriumhydroxydlösung zum Wasser aus Pacific Grove wurde auch dieses gut geeignet zur Entwicklung der Eier.

Weiter ist die Bedeutung der Wasserstoffionenkonzentration auch für ganz andere biologische Erscheinungen im Meerwasser festgestellt. Bezüglich der rhythmischen Bewegungen der Medusen hat Bethe[1]) gefunden, daß eine Erhöhung der Wasserstoffionenkonzentration von 10^{-8} auf 10^{-7} bzw. 10^{-6} die Bewegungen beschleunigt, während bei einer Konzentration von 10^{-9} bzw. 10^{-5} dieselbe vermindert oder gelähmt werden.

In dem Meerwasser der neapolitanischen Aquarien hielt Bethe[2]) die Wasserstoffionenkonzentration für ca. 10^{-8}, da es, ganz wie das von Loeb benutzte Wasser des Stillen Ozeans (siehe oben), mit Neutralrot orange gefärbt wurde und mit Phenolphthalein farblos verblieb.

Noch früher als die Biologen haben die Hydrographen ihre Aufmerksamkeit auf die Messung der Reaktion des Meerwassers gerichtet; schon die früheren Forscher, v. Bibra[3]), Guignet und Telles[4]) und Tornöe[5]) haben das Meerwasser deutlich, wenngleich schwach alkalisch gefunden. Später hat Natterer[6]) beobachtet, daß Wasser aus dem östlichen Teil des Mittelländischen Meeres durch Penolphthalein rot gefärbt wird und durch Vergleichung der roten Farbennuancen gefunden, daß das Bodenwasser weniger alkalisch als das Oberflächenwasser ist. Ruppin[7]) hält dagegen, daß Meerwasser mit Phenolphthalein nicht gefärbt wird. Diese letztere Ansicht ist vielleicht auf den Umstand zurückzuführen, daß nur Wasser aus der Nordsee und Ostsee in der Nähe von Kiel zur Untersuchung gelangte.

---

[1]) Bethe, Arch. f. d. ges. Physiol. 127, 261, 1909.

[2]) Bethe, Arch. f. d. ges. Physiol. 127, 256, 1909.

[3]) v. Bibra, Liebigs Annalen 77, 90, 1851.

[4]) Guignet und Telles, Compt. rend. de l'Acad. des sciences 83, 920, 1876.

[5]) Tornöe, Den norske Nordhavsekspedition 1876—1878, 1, 27, 1880.

[6]) Natterer, Denkschr. der kais. Akad. d. Wiss., math.-naturw. Klasse, 59, Ber. der Komm. für Erforschung des östlichen Mittelmeers, 83, 1892 und 60, 54, 1893.

[7]) Ruppin, Wissenschaftl. Meeresuntersuchungen. Kiel. Neue Folge. 11, 281, 1909.

W. E. Ringer[1]), der erste, der die Reaktion des Meerwassers quantitativ gemessen, hat durch eine große Reihe elektrometrischer Messungen an Wasser aus der Nordsee sowie aus der Zuidersee und dem Bömmelfjord das untersuchte Wasser schwach alkalisch gefunden; die gemessene Wasserstoffionenkonzentrationen lag zwischen $0{,}58 \times 10^{-8}$ und $1{,}40 \times 10^{-8}$. Vor der Messung waren die benutzten Meerwasserproben eine Zeitlang auf Flaschen aufbewahrt worden, und dies kann, wie später erwähnt wird, eine Änderung der Wasserstoffionenkonzentration bewirken. Die im Meerwasser gegenwärtige, nicht geringfügige Menge von Bikarbonat und freier Kohlensäure wird die bei der elektrometrischen Messung übliche Wasserstoffdurchleitung unmöglich machen, weil die Kohlensäure nach und nach durch den Wasserstoff ausgetrieben und das Wasser infolgedessen immer alkalischer werden wird. Deswegen füllt Ringer beim Anfang des Versuchs das Elektrodengefäß ganz mit der zu untersuchenden Probe des Meerwassers und saugt danach durch Ausströmung eines Teils des Meerwassers so viel Wasserstoff hinein, daß der größte Teil der Platinelektrode damit umgeben wird. Freilich werden bei diesem Verfahren wesentliche Mengen Kohlensäure[2]) nicht ausgetrieben, es dauert aber sehr lange, bis die elektrische Spannung die der Wasserstoffionenkonzentration entsprechende Größe erreicht. Ringer erstreckt deshalb eine Messung über 24 Stunden.

Weit schneller und bequemer ist die colorimetrische Messung, wie diese von S. P. L. Sörensen ausgearbeitet und in „Enzymstudien II"[3]) beschrieben ist: speziell für hydrographische Untersuchungen ist die Methode von S. P. L. Sörensen und S. Palitzsch[4]) ausgebildet und probiert worden. Mittelst dieser Methode, die sich auf das altbekannte Verhalten, daß die Farben der Indicatoren mit der Wasserstoffionenkonzentration sich ändern, gründet, wird eine wirklich quantitative Bestimmung der Wasserstoffionenkonzentration des Meerwassers mittelst der Benutzung von Vergleichsflüssigkeiten erreicht werden können. Zu diesem Zwecke werden, wie in

---

[1]) Ringer, Verhandelingen uit het Rijksinstituut voor het onderzoek der zee 1908.

[2]) Etwas Kohlensäure muß allerdings in den Wasserstoff hineindiffundieren und somit einen Fehler in der Messung veranlassen. Durch ein soeben von K. A. Hasselbalch im Carlsberg Laboratorium ausgearbeitetes schnelles und bequemes Verfahren können indessen selbst kohlensäurereiche Flüssigkeiten mittelst der elektrometrischen Methode genau gemessen werden. Diese Zeitschr. 30, 317, 1910.

[3]) S. P. L. Sörensen, diese Zeitschr. 21, 131, 1909.

[4]) S. P. L. Sörensen und S. Palitzsch, diese Zeitschr. 24, 387, 1910.

„Enzymstudien II" erwähnt, Lösungen einfach zusammengesetzter Stoffe benutzt, die man leicht chemisch rein darstellen kann und deren Wasserstoffionenkonzentration sich durch die elektrometrische Methode genau messen läßt.

Mit einem geeigneten Indicator wird eine Probe des Meerwassers sowohl als auch eine Reihe Vergleichsflüssigkeiten, deren Wasserstoffionenkonzentration stufenweise variiert und in der Nähe der der Meerwasserprobe liegt, gefärbt; durch Vergleichung der Farbennuancen findet man ohne Mühe die Lösung, die dieselbe oder beinahe dieselbe Wasserstoffionenkonzentration hat wie die vorliegende Probe des Meerwassers.

Da das Meerwasser fast farblos ist und keine kolloiden Stoffe enthält, eignet es sich vorzüglich für die colorimetrische Messung; nur wird sein großer Salzgehalt bewirken, daß der sog. „Salzfehler" eine entscheidende Rolle spielen wird. Die meisten Indicatoren ändern nämlich ihre Farbnuance auf Zusatz einer großen Menge Salz, was nicht allein davon herrührt, daß die Wasserstoffionenkonzentration durch den Salzzusatz verändert wird, sondern auch davon, daß die Farbe der Indicatoren von Salzen beeinflußt wird, unabhängig von der Wirkung der Wasserstoffionen. Da unter den Salzen des Meerwassers das Natriumchlorid weitaus vorherrschend ist, und da das Verhältnis zwischen denselben sich beinahe gleich bleibt, selbst wenn die Quantität des Salzgehaltes variiert, so wird man doch in diesem Falle die angedeutete Schwierigkeit dadurch überwinden können, daß man eine Korrektion findet, die von dem gefundenen p_H·[1]) abzuziehen bzw. zu demselben hinzuzufügen ist, um das wirkliche p_H· hervorzubringen. S. P. L. Sörensen und S. Palitzsch haben deswegen durch Vergleichung der durch elektrometrische Messungen und andererseits der durch colorimetrische Messungen derselben Meerwasserproben bestimmten Werte des p_H· die Salzfehler der folgenden Indicatoren: Phenolphthalein, α-Naphtholphthalein, Neutralrot und Nitrophenol gefunden und die Korrektionen in leicht übersichtlichen Tabellen zusammengestellt.

---

[1]) p_H· ist der numerische Wert des Exponenten derjenigen Potenz von 10, die die Zahl der Grammäquivalente Wasserstoffionen in einem Liter angibt (siehe diese Zeitschr. 21, 159, 1909).

Außerdem haben die zwei letztgenannten Verfasser die Wasserstoffionenkonzentration für ungefähr hundert Meerwasserproben, die während der Zeit zwischen der Einsammlung und der Untersuchung in verkorkten Flaschen aufbewahrt worden waren, bestimmt. Gleichzeitig hat man jedoch ausdrücklich betont, daß diese Bestimmungen keine Aufklärung geben über die Wasserstoffionenkonzentration der betreffenden Wasserproben in dem Augenblick, wo sie aus dem Meere herausgeholt worden sind. Doppelproben zeigten sehr verschiedene Wasserstoffionenkonzentrationen, und beim Stehenlassen in nicht ganz vollen Flaschen wurden die Proben bald alkalischer.

Im Meerwasser wird nämlich die Wasserstoffionenkonzentration in wesentlichem Maße durch das Zusammenspiel der Kohlensäure und der Calciumsalze bedingt. Freilich wirken die Karbonate und Bikarbonate wie „Puffer" (d. h. ein Zusatz von Säure bzw. Base zu einer Lösung dieser Stoffe ändert die Wasserstoffionenkonzentration in weit geringerem Grade als derselbe Zusatz zu reinem Wasser), so daß sie im natürlichen Meerwasser die Wasserstoffionenkonzentration zu regulieren imstande sind, selbst wenn die Kohlensäuremenge durch die Atmung der Tiere vermehrt oder durch Abgabe an die Atmosphäre vermindert wird; in einer dem Meerwasser entnommenen Probe dagegen wird die Quantität des Puffers in diesem abgesonderten Raumteil Wasser bei weitem nicht genügen, um die Wasserstoffionenkonzentration konstant zu halten. Schon nach ein paar Tagen werden die meisten Wasserproben weniger alkalisch geworden sein. Hieraus sowohl als auch aus den obenerwähnten Messungen geht deutlich hervor, daß es durchaus notwendig ist, die Messung an Bord, und zwar gleich nachdem der Wasserschöpfer an Bord gekommen ist, vorzunehmen.

B. Die auf der „Thor"-Expedition ausgeführten Messungen der Wasserstoffionenkonzentration des Meerwassers[1]).

Auf der fünf Monate langen Fahrt des dänischen Meeruntersuchungsdampfers „Thor" nach den Faröerinseln, dem Atlantischen Ozean und dem Mittelmeer im Sommer 1910 wurde

[1]) In dem Bericht über die Untersuchungsresultate der „Thor"-Expedition wird eine ausführliche tabellarische Zusammenstellung der gefundenen Zahlenwerte erscheinen.

es ermöglicht, die Messungen an Bord und gleich nachdem der Wasserschöpfer an Bord gekommen ist, auszuführen, wie es nach dem oben Auseinandergesetzten notwendig ist, um zuverlässige Resultate zu erhalten.

Bei den Messungen wurde die colorimetrische Meßmethode benutzt, da diese, wie oben erwähnt, schnell und bequem auszuführen ist, selbst auf einem Schiff in hoher See, wogegen die elektrometrische Methode eine umständliche und schüttelfreie Aufstellung erfordert und deswegen an Bord unanwendbar ist. Für die Messungen wurden Phenolphthalein und α-Naphtolphthalein als Indicatoren und Mischungen von Boratlösungen und Salzsäure als Vergleichsflüssigkeiten benutzt; die in dem Folgenden aufgeführten p_H sind bezüglich des Salzfehlers korrigiert (Näheres im Abschnitt C).

Aus dem auf der Expedition gemachten Messungen geht hervor, daß die Variation der Wasserstoffionenkonzentration im großen und ganzen zwar nicht bedeutend, aber doch leicht nachweisbar war. Die größte beobachtete Wasserstoffionenkonzentration (abgesehen von den Messungen im Schwarzen Meer) war $10^{-7,95}$ und die niedrigste $10^{-8,35}$; p_H lag also zwischen 7,95 und 8,35.

Bei dem Oberflächenwasser im Skagerack sowie im südöstlichen Teil der Nordsee und im westlichen Teil der Ostsee wurde p_H kleiner als 8,08 (am häufigsten zwischen 8,00 und 8,05) gefunden; das Wasser färbte sich demgemäß auf Zusatz von Phenolphthalein nicht. Im Norwegischen Meer war das Oberflächenwasser ein wenig alkalischer; p_H lag zwischen 8,08 und 8,13. Auf der Höhe von Murray Firth, ca. 20 Seemeilen vom Ufer, war p_H jedoch 8,15 bis 8,18. Im Atlantischen Ozean stieg das p_H von Norden nach Süden, nördlichst hat es beinahe denselben Wert wie im Norwegischen Meer, einen Fjord (Vaag-Fjord, Faröerinseln) mit sehr sauerstoffreichem Wasser ausgenommen, wo p_H gleich 8,22 bis 8,24 gefunden wurde. Im Biskayischen Meerbusen und längs der Küste Portugals stieg p_H auf 8,25, der Mittelwert des Oberflächenwassers des Mittelländischen Meeres; im östlichen Teil des letzteren erreichte p_H aber häufig den Wert 8,27. Alle Proben aus dem Mittelländischen Meer färbten sich demnach auf

Zusatz von Phenolphthalein deutlich rot[1]). Das am stärksten alkalische Wasser wurde im Marmarameer, Bosporus und im Schwarzen Meer geschöpft; in den Oberflächen an diesen Stellen beträgt p_H ca. 8,35.

Mit sehr wenigen Ausnahmen nahm die Wasserstoffionenkonzentration mit der Tiefe zu (p_H nahm also ab). Der Übergang von dem höheren p_H des Oberflächenwassers zu dem niedrigeren des Bodenwassers war zumeist ganz gleichmäßig, jedoch so, daß bei gleichem Tiefenunterschied die größten Abweichungen in den obersten Schichten konstatiert wurden.

Im Mittelländischen Meer wurden z. B. auf 40° 95′ N. bis 11° 31′ E. (zwischen Sardinien und Italien) folgende Werte für p_H gefunden:

Tiefe in Metern	0	50	100	200	400	800
p_H	8,23	8,23	8,21	8,19	8,19	8,17
Tiefe in Metern	1000	1200	1500	2000	2500	3200
p_H	8,14	8,14	8,12	8,09	8,07	8,07

Beinahe überall auf dem Boden des Mittelländischen Meeres wurde p_H gleich 8,07 bis 8,09 gefunden; das Wasser war hier also noch so alkalisch, daß es gerade mit viel Phenolphthalein schwach gefärbt werden konnte.

Im Atlantischen Ozean waren die Zahlen für die Station: 41° 32′ N. bis 9° 32′ W., auf der Höhe Portugals:

Tiefe in Metern	0	50	100	400	800	1000
p_H	8,22	8,18	8,13	8,04	8,01	8,01
Tiefe in Metern	1200		1500	2000		
p_H	7,98		7,95	7,95		

Im Norwegischen Meer, östlich von den Faröerinseln, 61° 27′ N. bis 6° 28′ W., war das eiskalte Bodenwasser ($t = \div 0{,}27°$) wider Erwarten noch so alkalisch wie p_H gleich 7,98. An dieser Stelle wurde übrigens als Mittelzahl mehrerer Messungen gefunden:

Tiefe in Metern	0	100	200	400	600	700
p_H	8,13	8,09	8,08	8,03	8,01	7,98

[1]) Meerwasser, ca. 35‰ Salz enthaltend, wird nämlich mit Phenolphthalein rot gefärbt, wenn sein p_H größer als 8,06 ist.

Das Wasser des Schwarzen Meeres unterscheidet sich von beinahe allen Meerwässern dadurch, daß es auf größeren Tiefen als 180 m Schwefelwasserstoff enthält. Man konnte demnach erwarten, daß dieses Wasser saurer als gewöhnliches Wasser war, und dies war denn auch der Fall. Die Proben von 800 und 1000 m (eine größere Reihe Proben wurden nur an einer Stelle entnommen) wurden bald nach der Entnahme sowohl mit Neutralrot als auch mit α-Naphtholphthalein gemessen. p_H betrug ca. 7,26. Dieses Wasser, das sauerste von allen auf der Expedition untersuchten Meerwässern, war also doch noch immer alkalischer als eine neutrale Lösung, deren p_H wie bekannt 7,07 beträgt. Da die Bestimmungen nachts ausgeführt wurden, und da die Farbennuancen sowohl mit Neutralrot als auch mit Naphtholphthalein in Flüssigkeiten mit p_H gleich ca. 7,3 orange bis gelb sind, welche Nuancen bei künstlichem Licht sich nicht leicht voneinander unterscheiden lassen, so konnte die Messung keine sehr genaue sein. In den Proben aus den größten Tiefen (1000 — 800 — 600 m) war am folgenden Morgen ein weißer Niederschlag entstanden, und dieselben waren nun alkalischer geworden; gemessen mit Phenolphthalein zeigte es sich, daß p_H gleich 7,80 geworden war; die übrigen Proben waren vollständig klar und zeigten durch Vergleichung:

Tiefe in Metern	0	10	25	50	75	85
p_H	8,34	8,25	8,19	8,15	8,03	7,99
Tiefe in Metern	100	200	300	400		
p_H	7,86	7,67	7,55	7,53		

Ein deutlicher Zusammenhang zwischen der Sauerstoffmenge und der Wasserstoffionenkonzentration bzw. zwischen der letzteren und der Temperatur bzw. dem Chlorgehalt scheint aus den gefundenen Zahlen nicht ersichtlich zu sein. An einigen Stellen wurden indessen Verhältnisse beobachtet, die darauf deuten könnten, daß eine große Sauerstoffmenge und ein hohes p_H (eine stark alkalische Reaktion) gleichzeitig auftreten; von einer allgemeinen Regel ist aber jedoch nicht die Rede. Die Kohlensäurespannung und die „Alkalinität" der auf der Expedition untersuchten

Wasserproben habe ich leider nicht bestimmt; wahrscheinlich besteht zwischen diesen beiden Faktoren und andererseits der Größe der Wasserstoffionenkonzentration ein gesetzmäßiger Zusammenhang.

Die auf der „Thor"-Expedition gefundenen Wasserstoffionenkonzentrationen sind, wie ersichtlich, in guter Übereinstimmung mit den Resultaten der in dem historischen Abschnitt erwähnten Untersuchungen.

Ringer hat (s. Abschnitt A) Konzentrationen von $0{,}58 \times 10^{-8}$ bis $1{,}40 \times 10^{-8}$ gefunden; in p_H ausgedrückt: von 8,24 bis 7,86. Obgleich die benutzten Wasserproben in bezug auf die Beschaffenheit und die Stelle der Entnahme von den auf der Expedition untersuchten Meerwässern größtenteils sehr verschieden sind, so ist p_H dennoch nur wenig abweichend (7,86 bis 8,24 und 7,95 bis 8,35).[1])

Während die Messungen an Bord gleich nach der Entnahme der Proben also Werte für p_H zwischen 7,95 und 8,35 gegeben haben, wurden von S. P. L. Sörensen und S. Palitzsch in nach Hause gebrachten und längere Zeit hindurch aufbewahrten Proben von beinahe derselben Art Meerwasser Wasserstoffionenkonzentrationen gemessen, die sogar größer als die der neutralen Lösungen waren. Diese Erhöhung der Wasserstoffionenkonzentration ist also während der Aufbewahrung entstanden. In denjenigen Proben, die beinahe richtige Resultate ergeben haben, hat die Abgabe alkalischer Bestandteile des Glases dieser Erhöhung wahrscheinlich entgegengewirkt.

Da das Meerwasser in so enger Berührung mit den Organismen des Meeres ist, nicht bloß dieselben umspült, sondern ihre Kiemen durchströmt und auch die Wirbellosen in weitgehendem Maße durchtränkt, so dürfte es nicht ungerechtfertigt erscheinen, das Meerwasser anderen physiologischen Flüssigkeiten beizuordnen. Aus den in dem Vorhergehenden beschrie-

[1]) Bemerkung während der Korrektur: Auch die von Kurt Buch neuerdings veröffentlichten Messungen der Wasserstoffionenkonzentrationen von ziemlich salzarmen Wasserproben aus dem Finnischen Meerbusen stehen mit unseren Resultaten in guter Übereinstimmung. (Föredrag hållet vid Finska kemist sam fundets möte den 9 november 1910.)

benen Messungen ist ersichtlich, daß das Meerwasser ganz wie diese Flüssigkeiten eine bedeutende Fähigkeit[1]), seine Wasserstoffionenkonzentration zu regulieren, besitzt, obwohl diese Fähigkeit nicht so ausgesprochen ist, wie z. B. die im Blute nachgewiesene.

Sowohl für das Meerwasser als auch für das Blut gilt es, daß die physikalische und die chemische Beschaffenheit eine ganz bestimmte sein muß, damit die Tiere, die darin und dadurch leben, sich wohl befinden können. Bei Versuchen mit künstlich hergestelltem Meerwasser oder bei Aquarienversuchen ist es deswegen sehr notwendig, eine bestimmte Wasserstoffionenkonzentration zu erzeugen und während der ganzen Versuchsdauer aufrechtzuerhalten, und es darf nicht außer acht gelassen werden, daß diese Konzentration für Oberflächenorganismen nicht dieselbe wie für Tiefseetiere ist. Selbst wenn der Unterschied ein kleiner ist, ist er doch, wie Loeb und Bethe gezeigt haben, groß genug, um einen entscheidenden Einfluß haben zu können.

C. Die praktische Ausführung der Messung der Wasserstoffionenkonzentration des Meerwassers.

Bei Anwendung an Bord des Untersuchungsdampfers „Thor" hat sich die colorimetrische Messung gut bewährt. In der nachstehenden ausführlichen Beschreibung ist besonders Gewicht darauf gelegt, solche Umstände, deren Bedeutung für die bequeme und genaue Ausführung an Bord sich herausgestellt haben, zu erörtern.

Da die Wasserstoffionenkonzentration des Meerwassers zwischen p_H gleich 7,95 und gleich 8,35 lag, wurden als Stammflüssigkeiten für die Vergleichsflüssigkeiten nur Lösungen von Borat und Salzsäure und als Indicatoren α-Naphtholphthalein[2]) und Phenolphthalein benutzt. (Nur für die schwefelwasserstoff-

---

[1]) Es scheint, als ob diese Fähigkeit durch verschiedene Faktoren unterstützt werde; so z. B. hat J. Loeb (University of California Publications, Physiologie 1, Nr. 15, 139, 1904; Arch. f. d. ges. Physiol. 101, 304, 1904 beobachtet, daß gewisse Algen (Ulva) im Lichte eine alkalische Substanz ausscheiden.

[2]) Diese Zeitschr. 24, 381, 1910. Das α-Naphtholphthalein ist jetzt bei C. A. F. Kahlbaum zu beziehen.

haltigen Proben des Schwarzen Meeres wurden Phosphatmischungen[1]) angewendet.)

Die Indicatorlösungen wurden durch Lösung von 0,2 g α-Naphtholphthalein bzw. 0,5 g Phenolphthalein in 300 ccm 93%igem Alkohol und Verdünnung mit Wasser bis $^1/_2$ l dargestellt.

0,1 n Salzsäure wurde sorgfältig auf Natriumoxalat eingestellt.

Die Boratlösung wurde durch Lösung von 0,2 g-Mol. Borsäure (12,404 g) in 100 ccm normaler Natriumhydroxydlösung und Verdünnung bis zu 1 l dargestellt. Die benutzte Borsäure genügte den von S. P. L. Sörensen[2]) aufgestellte Forderungen in bezug auf Reinheit.

Zu allen Lösungen wurde destilliertes Wasser verwendet, das zwecks Entfernung der Kohlensäure in einem verzinnten Kupferkolben gründlich ausgekocht worden war. Um beim Umgießen aus dem Meßkolben in die Aufbewahrungsflasche zu vermeiden, daß die Kohlensäure der Atmosphäre mit der Flüssigkeit in Berührung käme, wurde in dem Stöpsel des Kolbens ein kurzes und ein langes Rohr angebracht, derart, daß die Luft der Aufbewahrungsflasche, die vorher mittelst Durchleitung kohlensäurefreier Luft kohlensäurefrei gemacht worden war, durch das lange Rohr hinaufging, während die Flüssigkeit durch das kurze Rohr hinunterlief, ohne der Einwirkung der äußeren kohlensäurehaltigen Luft ausgesetzt zu werden. Die Luft in den zur Anwendung kommenden Kolben, Flaschen und Pipetten wurde kohlensäurefrei gemacht, was mittelst Durchleitung von Luft erzielt wurde, die erst durch eine starke Kaliumhydroxydlösung und dann durch Wasser gestrichen war.

Die für die Boratlösung zu verwendende Natriumhydroxydlösung, die frei von Kohlensäure sein muß, wurde durch Lösung von 100 g Natriumhydroxyd e natrio (Kahlbaum) in 125 ccm Wasser in einem engen Zylinder, der mit einem Glasstöpsel verschlossen war, dargestellt. Die Lösung wurde ca. 17 n. gemacht; da Natriumcarbonat in einer solchen Lösung ganz

---

[1]) Diese Zeitschr. 21, 169, 1909.

[2]) Diese Zeitschr. 21, 172, 1909.

unlöslich ist und in ein paar Tagen sich zu Boden setzt, konnte die darüber stehende klare Flüssigkeit, die frei von Carbonat ist, leicht abpipettiert werden.

Die Flaschen, in denen die Vergleichsflüssigkeiten aufbewahrt wurden, waren mit einem doppelt durchbohrten Stöpsel von Kautschuk versehen. Durch diesen war teils eine Glasröhre, die bis zum Boden ging und durch die die Bürette gefüllt wurde, und teils eine mit Natronkalk gefüllte Röhre, damit die in die Flasche eindringende Luft von Kohlensäure befreit wurde, gesteckt. Zum Abmessen dienten Büretten, die von unten gefüllt wurden und oben ebenfalls eine Natronkalkröhre trugen, um die beim Entleeren der Bürette eingesogene Luft kohlensäurefrei zu machen.

Die Lösungen wurden zu Lande dargestellt. Bei einem nach der Heimkunft angestellten Vergleich stellte sich heraus, daß die benutzten Mischungen keine meßbaren Veränderungen erlitten hatten.

Die Herstellung der Vergleichsflüssigkeiten aus den Stammlösungen während der Fahrt vorzunehmen würde ziemlich unbequem, oft sogar ganz unmöglich sein. Diese Schwierigkeit wurde überwunden durch Benutzung von Flaschen von je ca. 150 ccm, die mit Vergleichsflüssigkeiten gefüllt wurden, während das Schiff im Hafen lag. Die zweckdienlichsten Mischungen waren die folgenden: 5,6, 5,7, 5,8, 6,0, 6,2, 6,4, 6,7, 7,0 Borat und Salzsäure. 5,6 Borat und Salzsäure bedeutet eine Mischung von 5,6 ccm Borat und $(10 - 5{,}6) = 4{,}4$ ccm Salzsäure. Indem man 150 ccm auf einmal statt jedesmal nur 10 ccm abmißt, wird zugleich eine größere Genauigkeit erzielt, da ein Fehler von 0,1 ccm dann nur eine fast unmerkbare Änderung in p_H bedeutet. Die Flaschen waren mit einem doppelt durchbohrten Kautschukstöpsel versehen. Durch das eine Loch ging eine kleine Glasröhre, granulierten Natronkalk enthaltend, durch das andere eine Glasröhre, die den Boden erreichte, und deren oberes Ende mit einem kleinen Stück Gummischlauch und einer kleinen Glasstange verschlossen war. Wenn die Vergleichsflüssigkeiten in Verwendung genommen werden sollten, wurde die Glasstange abgenommen und eine Pipette von 10 ccm in den Gummischlauch eingesteckt; wurde nun die Pipette voll gesogen, so mußte die in die Flasche ein-

gesogene Luft durch die Natronkalkröhre gehen und deswegen kohlensäurefrei werden. Die Flaschen wurden in einem kleinen Kasten untergebracht und mit Kupferdraht festgespannt, was weniger Platz einnimmt und auch leichter ist als hölzerne Scheidewände.

Während die Vergleichung der Farben vorgenommen wurde, wurden die Reagensgläser in ein Gestell, das so eingerichtet war, daß die Gläser schräge standen, und einen Winkel von ca. 40° mit dem Tische bildeten, gestellt. Die unterste Platte, auf der der Boden der Gläser ruhte, wurde mit milchweißem Wachstuch bedeckt, damit man die Farben gegen einen hellen Hintergrund sah. Die Anwendung von Wachstuch oder Celluloid ist geboten, weil Papier durch die an Bord unvermeidliche Feuchtigkeit zerstört wird. Die Reagensgläser wurden mit Korken verschlossen gehalten, um das Eindringen von Staub und die Einwirkung der Kohlensäure der Luft zu verhüten; allerdings ist für das Meerwasser diese Einwirkung nur von geringem Belang, da die Kohlensäurespannung dieses Wassers mit der der Atmosphäre beinahe im Gleichgewicht steht. Die Reagensgläser waren dünnwandig und von farblosem Glas. Der Durchmesser der von mir benutzten Gläser war kleiner als 22 mm und größer als 21 mm. Eine solche gleichmäßige Größe ist notwendig, da sonst die Höhe und die Dicke des Flüssigkeitsvolumens so sehr variieren wird, daß die Vergleichung in hohem Grade erschwert wird. Auf dem Glas für die Meerwasserprobe war mit Glastinte (Flußsäure) ein Ring eingeätzt, so daß, wenn man Wasser bis zu dieser Marke einfüllte, man eben 10 ccm bekam. Das Glas wurde mit Meerwasser direkt aus dem Wasserschöpfer gefüllt, 6 Tropfen α-Naphtholphthalein bzw. 8 Tropfen Phenolphthalein wurden aus einer kleinen Tropfenflasche mit eingeschliffenem Glasstöpsel zugesetzt, und das Glas wurde unter die vorher gefärbten Vergleichsflüssigkeiten eingestellt, wonach die colorimetrische Bestimmung auf gewöhnliche Weise ausgeführt wurde[1]). Der Messungsfehler des Wertes von p_H hat $\pm$ 0,04 sicherlich nicht überstiegen.

Nachdem die Vergleichsflüssigkeit, die dieselbe oder beinahe dieselbe Farbnuance wie das Meerwasser hatte, bestimmt

---

[1]) Diese Zeitschr. 21, 203, 1909.

war, wurde p_H des Meerwassers in den Tabellen I und II[1]), wo die bezugs des Salzfehlers für 35‰ und 20‰ Salzgehalt korrigierten Werte des p_H der Vergleichsflüssigkeiten zu finden sind, aufgesucht. Da die größte Korrektion 0,22 (für 35‰ Salz) beträgt, wird ein Unterschied von einigen Promille Salz nur einen unbedeutenden Unterschied in p_H geben, und kann man deshalb für die übrigen Salzkonzentrationen mit hinlänglicher Genauigkeit inter- und extrapolieren.

Tabelle I.

Boratmischungen; α-Naphtholphthalein.

Zusammensetzung der Boratmischung	Der Wasserstoffionenexponent p_H der Boratmischung		
	nicht korrigiert	nach Korrektion bezüglich des Salzfehlers	
		35‰ Salz (Korr. = — 0,22)	20‰ Salz (Korr. = — 0,17)
5,25 ccm Borat + 4,75 ccm HCl	7,62	7,40	7,45
5,3 „ „ + 4,7 „ „	7,71	7,49	7,54
5,4 „ „ + 4,6 „ „	7,84	7,62	7,67
5,5 „ „ + 4,5 „ „	7,94	7,72	7,77
5,6 „ „ + 4,4 „ „	8,03	7,81	7,86
5,8 „ „ + 4,2 „ „	8,17	7,95	8,00
6,0 „ „ + 4,0 „ „	8,29	8,07	8,12

Tabelle II.

Boratmischungen; Phenolphthalein.

Zusammensetzung der Boratmischung	Der Wasserstoffionenexponent p_H der Boratmischung		
	nicht korrigiert	nach Korrektion bezüglich des Salzfehlers	
		35‰ Salz (Korr. = — 0,21)	20‰ Salz (Korr. = — 0,16)
6,0 ccm Borat + 4,0 ccm HCl	8,29	8,08	8,13
6,25 „ „ + 3,75 „ „	8,41	8,20	8,25
6,5 „ „ + 3,5 „ „	8,51	8,30	8,35
6,75 „ „ + 3,25 „ „	8,60	8,39	8,44
7,0 „ „ + 3,0 „ „	8,68	8,47	8,52
7,25 „ „ + 2,75 „ „	8,74	8,53	8,58
7,5 „ „ + 2,5 „ „	8,80	8,59	8,64
8,0 „ „ + 2,0 „ „	8,91	8,70	8,75

[1]) Diese Zeitschr. 24, 399 und 400, 1910.

Meinen hochverehrten Lehrer, Herrn Professor Dr. phil. S. P. L. Sörensen, der mit größtem Entgegenkommen mir Zeit und Gelegenheit zur Ausführung dieser Untersuchungen gegeben hat, bitte ich auch an dieser Stelle, meinen herzlichsten Dank entgegenzunehmen für alle Unterstützung, die er mir hat angedeihen lassen. Ebenfalls bin ich auch Herrn Dr. phil. Johannes Schmidt zu Dank verpflichtet, weil ich auf der „Thor"-Expedition i. J. 1910 Gelegenheit erhielt, die colorimetrische Messung der Wasserstoffionenkonzentration des Meerwassers zu prüfen.

Über die Verwendung von Methylrot bei der colorimetrischen Messung der Wasserstoffionenkonzentration[1]).

Von

Sven Palitzsch.

(Aus dem Carlsberg Laboratorium, Kopenhagen.)

(Eingegangen am 15. Oktober 1911.)

Da es sich bei einigen Untersuchungen im hiesigen Laboratorium herausgestellt hatte, daß der von Rupp und Loose[2]) dargestellte Indicator, das Methylrot, zur Verwendung bei colorimetrischen Messungen der Wasserstoffionenkonzentration vorzüglich geeignet war, wurde das Umschlagsgebiet, die „Abweichungen" desselben durch Gegenwart von Salzen, Proteinstoffen usw. in ganz ähnlicher Weise bestimmt, wie dies mit den zahlreichen in „Enzymstudien II"[3]) beschriebenen Indicatoren, sowie auch mit dem später untersuchten α-Naphtholphthalein[4]) ausgeführt worden ist.

Methylrot ist der von Rupp und Loose vorgeschlagene technische Name für p-Dimethylamino-azobenzol-o-carbonsäure oder — mit den Indicatornamen in „Enz. II" übereinstimmend — o-Benzolcarbonsäure-azo-dimethylanilin.

Zur Untersuchung des Methylrots wurde ein von C. A. F. Kahlbaum dargestelltes Präparat benutzt. Eine Umkrystallisation

---

[1]) Wird gleichzeitig in französischer Sprache in den Comptes rendus du Lab. de Carlsberg 10, 146, 1911 veröffentlicht.

[2]) E. Rupp und R. Loose, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 41, 3905, 1908.

[3]) S. P. L. Sörensen, diese Zeitschr. 21, 131, 1909. Diese Abhandlung wird im folgenden als „Enz. II" bezeichnet.

[4]) S. P. L. Sörensen und S. Palitzsch, diese Zeitschr. 24, 381 und 387, 1910.

dieses Präparats rief keine merkbare Änderung seines Verhaltens bei der colorimetrischen Messung hervor und kann demnach als unnötig bezeichnet werden.

4 g Methylrot wurden mit 30 ccm Eisessig[1]) erhitzt und dann filtriert. Die noch warme Lösung wurde mit Wasser bis zum Eintritt einer Trübung verdünnt, dann weiter erhitzt, bis diese Trübung verschwunden war, und sodann schnell abgekühlt. Auf diese Weise scheidet sich die Substanz krystallinisch aus; bei Zusatz von zu viel Wasser wird dagegen ein schleimiger Niederschlag gebildet.

Als Indicatorlösung wurde eine Lösung von 0,1 g in 300 ccm 93%igem Alkohol + 200 ccm Wasser benutzt.

Auf 10 ccm Versuchs- bzw. Vergleichsflüssigkeit wurden 2 bis 4 Tropfen, am häufigsten 4 Tropfen verwendet.

Stark saure Lösungen werden durch Methylrot tief veilchenrot, schwach saure, neutrale, sowie alkalische Lösungen gelb gefärbt.

Mit 4 Tropfen Indicatorlösung ist z. B.:

5,5	Citrat + NaOH[2])	gelb,
8,0	„ + „	orange,
10,0	„	gelblich-rot,
8,0	„ + HCl	rot,
5,0	„ + „	veilchenrot.

Der schärfste Umschlag liegt zwischen 6 Citrat + HCl (p_H = 4,2) und 5,5 Citrat + NaOH (p_H = 6,3).

Ein Unterschied der Wasserstoffionenkonzentration, der einem Unterschied von 0,1 des Wertes des p_H entspricht, gibt innerhalb des erwähnten Gebietes einen ausgesprochenen Unterschied des Farbtons.

Zufolge seines Umschlagsgebietes liegt das Methylrot an der Grenze zwischen den Indicatoren der Azogruppe und denen der Phosphatmischungen („Enz. II", S. 242), zufolge seiner Zusammensetzung gehört dieser Indicator zu der ersteren Gruppe, mit deren zwei letzteren Gliedern („Enz. II", S. 239) er auch etwas Ähnlichkeit besitzt. Diese beiden Farbstoffe sind das Benzol-azo-α-naphthylamin und das p-Benzolsulfonsäure-azo-α-naphthylamin, die beide in dem Verzeichnis der besonders zu empfehlenden Indicatoren, nämlich als Nr. 11 und 12 („Enz. II", S. 254), aufgenommen worden sind.

---

[1]) Vgl. Rupp und Loose, l. c. S. 3906.

[2]) „Enz. II", S. 176.

In „Enz. II" findet man auf S. 230 und 231 eine Zusammenstellung zahlreicher Azofarbstoffe und deren Umschlagszonen. Das Methylrot gehört seiner COOH-Gruppe wegen zu keiner der sechs angeführten Reihen; dagegen könnte man vielleicht die folgende Reihe aufstellen:

Benzol-azo-dimethylanilin $p_H = 2{,}9—4{,}0$.
p-Benzolsulfonsäure-azo-dimethylanilin $p_H = 3{,}1—4{,}4$,
o-Benzolcarbonsäure-azo-dimethylanilin $p_H = 4{,}2—6{,}3$,

Während die Einführung der Sulfonsäuregruppe (in p-Stellung) die Umschlagszone nicht wesentlich verschiebt („Enz. II", S. 231), so scheint dies dagegen der Fall zu sein, wenn die COOH-Gruppe (in o-Stellung) eingeführt wird.

Die durch Methylrot erhaltenen Farbtöne sind viel reiner und kräftiger als die von Nr. 11 und 12 hervorgebrachten, so daß die Versuchsflüssigkeit sich sicherer und genauer unter die Vergleichsflüssigkeiten einschalten läßt. Zur Beurteilung, inwiefern das Methylrot noch andere Vorteile als den stärker ausgesprochenen Farbenunterschied besitzt, sind in dem Folgenden Nr. 11 und 12 in der Regel mit dem Methylrot zusammen untersucht worden.

Wie es mit den meisten anderen sauren Azofarbstoffen der Fall ist, ändert sich die Farbe der mit Methylrot versetzten Vergleichsflüssigkeiten — selbst nach mehrtägiger Aufbewahrung — nicht.

Der Einfluß von Toluol und Chloroform wurde in der früher („Enz. II", S. 211) angegebenen Weise geprüft; 8 Citrat + NaOH wurde mit einem Überschuß von Toluol bzw. Chloroform geschüttelt, dann filtriert und mit Methylrot gefärbt. Eine Änderung des Farbtons durch diese Sättigung mit Toluol bzw. Chloroform konnte nicht wahrgenommen werden. Mit einer reichlichen Menge dieser Antiseptica ließ sich jedoch der Farbstoff mit gelber Farbe so gut wie vollständig aus der Lösung ausschütteln. Das Methylrot verhält sich daher in dieser Beziehung wie die sauren Azofarbstoffe.

Der Einfluß der Neutralsalze. Wie bereits früher erwähnt[1]), ändern sich die Farbtöne der Indicatoren durch Zusatz einer großen Menge Salz, und diese Erscheinung ist

[1]) „Enz. II", S. 208; S. P. L. Sörensen und S. Palitzsch, l. c. S. 389.

nicht nur auf die durch den Salzzusatz hervorgerufene Änderung der Wasserstoffionenkonzentration der Lösung, sondern auch auf die Einwirkung des Salzes selbst auf die Farbe zurückzuführen. Bei den Versuchen über den Einfluß der Salze ist besonders das Natriumchlorid verwendet worden, da dieses Salz so oft bei physiologischen Untersuchungen in Anwendung gebracht wird. Eine bestimmte Phosphatmischung (siehe „Enz. II", S. 175), deren Konzentration $^1/_{15}$ mol. betrug, erhielt einen Zusatz von so viel Natriumchlorid, daß die Lösung mit Rücksicht auf dieses eine Konzentration von 0,5 bzw. 0,7 mol. erreichte, und die Wasserstoffionenkonzentration wurde darauf sowohl elektrometrisch als colometrisch bestimmt. Als Vergleichsflüssigkeiten bei der colorimetrischen Messung kamen Citratmischungen („Enz. II", S. 176) zur Anwendung. Da zwischen dem Farbton von Methylrot in einer Citrat- und andererseits in einer Phosphatmischung von gleicher Wasserstoffionenkonzentration ein, wenngleich sehr geringer, Unterschied ist, so könnte es genauer erscheinen, auch Phosphatmischungen als Vergleichsflüssigkeiten zu benutzen. Die Phosphatmischungen sind aber bei den Wasserstoffionenkonzentrationen, wo das Methylrot seinen deutlichsten Umschlag zeigt, als Vergleichsflüssigkeiten ungeeignet (vgl. „Enz. II", S. 181); außerdem handelt es sich hier um Abweichungen von höchstens 0,02 im Werte des p_H (siehe Tabelle IV), was innerhalb des Bereichs der Versuchsfehler liegt. Der durch die Anwendung der Citratmischungen als Vergleichsflüssigkeiten verursachte Fehler kann somit vernachlässigt werden.

In den nachfolgenden Tabellen ist der „Salzfehler", d. h. die Differenz, in p_H ausgedrückt, zwischen der colorimetrischen und elektrometrischen Messung (col. — elektr.) aufgeführt.

Tabelle I.[1])

$^1/_{15}$ mol. Phosphatmischung, 0,5 mol. Natriumchlorid.

Phosphatmischung	0,25 sec.	0,80 sec.	1,5 sec.
Elektrometrisch gemessen p_H =	4,84	5,35	5,67
Salzfehler bei Methylrot . . .	+ 0,01	+ 0,01	− 0,01
„ „ Nr. 12	+ 0,02	− 0,04	− 0,10
„ „ „ 11	0,00	− 0,01	—

[1]) Eine in „Enz. II", S. 210 erwähnte, der obigen ganz entsprechende Messung hat dasselbe Resultat gegeben.

Tabelle II.

$^1/_{15}$ mol. Phosphatmischung, 0,7 mol. Natriumchlorid.

Phosphatmischung	0,25 sec.	0,80 sec.	1,5 sec.
Elektrometrisch gemessen p_H =	4,74	5,25	5,55
Salzfehler bei Methylrot . . .	+ 0,02	+ 0,01	+ 0,02
„ „ Nr. 12	+ 0,03	− 0,04	− 0,08
„ „ „ 11	− 0,01	− 0,04	+ 0,02

(p_H bei den salzfreien Lösungen ist resp. 5,29, 5,81, 6,10; ein Zusatz von 0,5 mol. Natriumchlorid vermindert daher p_H um 0,45, 0,46, 0,43, und ein Zusatz von 0,7 mol. Natriumchlorid um 0,55, 0,56, 0,55.)

Aus diesen Tabellen ist ersichtlich, daß der Salzfehler bei Nr. 12 mit der Wasserstoffionenkonzentration merkbar geändert wird, eine Erscheinung, die bei keinem der früher untersuchten Indicatoren wahrgenommen wurde. Bei Methylrot liegen die gefundenen Salzfehler innerhalb der Grenze der Versuchsfehler; dieses ist jedoch nicht immer der Fall, wie aus der nachfolgenden Reihe von Bestimmungen hervorgeht.

Tabelle III.

$^1/_{150}$ mol. Phosphat, 0,25 sec., die Salzmengen verschieden.

Natriumchlorid	0,0 mol.	0,1 mol.	0,25 mol.	0,50 mol.	1,0 mol.
Elektrometr. gemessen p_H =	5,48	5,19	5,03	4,91	4,65
Salzfehler bei Methylrot . .	− 0,01	+ 0,05	+ 0,12	+ 0,07	+ 0,08
„ „ Nr 12 . . .	+ 0,15	+ 0,12	+ 0,11	+ 0,06	+ 0,05
„ „ „ 11 . . .	+ 0,27	+ 0,15	+ 0,08	+ 0,04	+ 0,02

Die bei Vermehrung des Salzgehaltes eintretende Verminderung des Salzfehlers ist darauf zurückzuführen, daß die benutzten Vergleichsflüssigkeiten in bezug auf Citrat eine Konzentration von 0,1 mol. besitzen; wären dagegen Phosphatmischungen gleicher Konzentration ($^1/_{150}$ mol.) wie die Versuchsflüssigkeiten benutzt worden, dann wäre der Salzfehler bei 0,0 mol. Natriumchlorid selbstverständlich gleich Null und bei steigendem Salzgehalt, von diesem Punkte ausgehend, ein wachsender gewesen. Aus den Zahlen der ersten Kolonne der Tabelle III kann ferner der Schluß gezogen werden, daß eine Änderung der Phosphatmenge bei Nr. 11 und 12 einen bedeutenden Salzfehler hervorruft, während dies bei dem Methylrot nur in geringem Grade einzutreten scheint. In den Tabellen IV und V wurde daher der Salzfehler bei wechselnden

Phosphatmengen in Lösungen, die entweder kein Natriumchlorid enthalten oder in bezug auf dieses Salz eine Konzentration von 0,5 mol. besitzen, bestimmt.

Tabelle IV.

0,25 sec., ohne Natriumchlorid, die Phosphatmenge verschieden.

Phosphatmenge	$^1/_{150}$ mol.	$^1/_{60}$ mol.	$^1/_{15}$ mol.
Elektrometrisch gemessen . .	5,48	5,43	5,29
Salzfehler bei Methylrot . . .	− 0,01	− 0,04	− 0,02[1])
„ „ Nr. 12	+ 0,15	+ 0,06	0,00
„ „ „ 11	+ 0,27	+ 0,22	+ 0,02[1])

Tabelle V.

0,25 sec., 0,5 mol. Natriumchlorid, die Phosphatmenge verschieden.

Phosphatmenge	$^1/_{150}$ mol.	$^1/_{30}$ mol.	$^1/_{15}$ mol.
Elektrometrisch gemessen p_H =	4,91	4,85	4,84
Salzfehler bei Methylrot . . .	+ 0,07	+ 0,02	+ 0,01
„ „ Nr. 12	+ 0,06	+ 0,03	+ 0,02
„ „ „ 11	+ 0,04	+ 0,04	0,00

Der Einfluß der Proteinstoffe und deren Abbauprodukte ist auf die meisten Azofarbstoffe ein ziemlich bedeutender. Bei Methylrot indessen ist dieser Einfluß ziemlich konstant und unabhängig von der Wasserstoffionenkonzentration, weshalb dieser Indicator auch bei Lösungen genuiner Eiweißstoffe meistens gute Dienste leisten kann, wenn man nur berücksichtigt, eine entsprechende Korrektion anzubringen. Betreffs der Indicatoren Nr. 11 und 12 ist dieses dagegen nicht der Fall, indem der erwähnte Einfluß hier mit der Wasserstoffionenkonzentration variiert, wie aus der Tabelle VI ersichtlich ist.

Das Methylrot hat also vor Nr. 11 und 12 den Vorteil, daß die durch genuines Eiereiweiß bewirkte Abweichung bei sämtlichen untersuchten Wasserstoffionenkonzentrationen von derselben Größe ist; ferner läßt sich die colorimetrische Vergleichung sehr sicher durchführen, weil das Methylrot mit

[1]) Diese Abweichungen sind darauf zurückzuführen, daß sowohl bei diesen wie bei den übrigen in der vorliegenden Abhandlung erwähnten Versuchen Citrat- und nicht Phosphatgemische als Vergleichsflüssigkeiten verwendet wurden.

Proteinstoffen keine anders gefärbten oder wenig gefärbten Verbindungen bildet, was sonst mit so vielen anderen Indicatoren der Fall ist.

Tabelle VI.

Der Unterschied, in p_H ausgedrückt, zwischen der colorimetrischen und der elektrometrischen Messung (col. — elektr.) salzsaurer, ca. 2% iger Lösungen von genuinem Eiereiweiß.

Elektrometrisch gemessen p_H	Methylrot	Nr. 12	Nr. 11
4,65	—	−0,06[1])	—
4,99	−0,24	−0,12	+0,08
5,16	−0,18	−0,26	+0,03
5,34	—	−0,27[1])	—
5,53	−0,26	−0,40	−0,14
5,60	−0,21	−0,43	−0,19
5,68	−0,27	−0,51	−0,22
5,75	−0,27	−0,68	−0,25

Übersichtlichkeitshalber sind die Ergebnisse der Messungen einiger anderen genuinen, wie auch etlicher mehr oder weniger durch Pepsin gespaltene Proteinstoffe in der Tabelle VII, S. 138 zusammengestellt.

Aus der Tabelle VII erhellt, daß das Methylrot sich den Abbauprodukten der Proteinstoffe gegenüber wie Nr. 11 und 12 verhält. Der Unterschied zwischen der colorimetrischen und der elektrometrischen Messung ist durchweg sehr gering, oft nicht größer als der den Versuchsfehlern zuzuschreibende Unterschied; bei dialysiertem Serum ist dagegen die Abweichung eine ziemlich bedeutende.

Für die colorimetrische Messung schwach saurer, wässeriger Auszüge von Weizenmehl[2]) hat sich das Methylrot als weit besser geeignet als Nr. 12 erwiesen, weil der letztere Indicator oft in bedeutender Menge von den colloiden Stoffen der Lösung unter Bildung gelber oder farbloser Verbindungen aufgenommen wird und dadurch eine genaue colorimetrische Vergleichung verhindert; dieses ist mit dem Methylrot nicht

[1]) Diese Zahlen sind der „Enz. II", S. 239 entnommen.

[2]) Die Wasserstoffionenkonzentration derartiger Mehlauszüge ist in größerem Umfange vom Verfasser gegenwärtiger Abhandlung gemessen anläßlich der Untersuchungen H. Jessen-Hansens über die Backfähigkeit des Weizenmehls (vgl. die Abhandlung in Compt. rend. du Lab. de Carlsberg 10, Heft 1, 1911).

der Fall. Der Unterschied, in p_H ausgedrückt, zwischen der elektrometrischen und der colorimetrischen Messung dieser Auszüge mittels des Methylrots schwankte — je nach der Zusammensetzung des Auszuges — zwischen — 0,20 und + 0,25 (col. — elektr.).

Tabelle VII.

Zusammensetzung der untersuchten Lösung	Färbung der Vergleichsflüssigkeiten	Elektrometrisch gefunden p_H	Methylrot (4,2—6,3) p_H	Benzolsulfonsäure-azo-α-naphthylamin (3,5—5,7) p_H	Benzol-azo-α-naphthylamin (3,7—5,0) p_H
Eine salzsaure, ca. 1 % ige Caseinlös. + sec. Phosphat ($^1/_{50}$ mol.) + NaCl (0,1 mol.)	2 Tr. Helianthin II 1 „ Bismarckbr. 3 „ Methylviolett 3 „ $BaSO_4$	5,66	5,58	5,71	5,75
Eine salzsaure, ca. 2 % ige Lösung von dialysiertem Serum + prim. Phosphat ($^1/_{150}$ mol.)	2 Tr. Helianthin II 1 „ Bismarckbr.	4,73	5,83	> 6,00	> 6,00
Eine ähnliche Lösung, nur ein wenig stärker salzsauer	2 Tr. Helianthin II 1 „ Bismarckbr.	3,96	4,75	> 6,00	5,56
Eine salzsaure, ca. 2 % ige Lösung von zum Teil pepsingespaltenem Casein .	1½ Tr. Bismarckbr.	5,57	5,48	5,46	5,44
Eine ca. 2 % ige Leimlösung + prim. Phosphat ($^1/_{150}$ mol.)	3 Tr. Helianthin II ½ „ Bismarckbr. 1 „ $BaSO_4$	5,56	5,51	5,51	5,57
Eine salzsaure, ca. 2 % ige Leimlösung + prim. Phosphat ($^1/_{150}$ mol.) . . .	3 Tr. Helianthin II ½ „ Bismarckbr. 1 „ $BaSO_4$	5,17	5,17	5,19	5,29
Eine salzsaure, ca. 2 % ige Lösung von Witte-Pepton + NaCl (0,1 mol.) . . .	5 Tr. Helianthin II 2 „ Bismarckbr. 2 „ Methylviolett	4,88	4,91	4,91	4,87
Eine ähnliche Lösung, nur mit einer größeren Menge NaCl (0,5 mol.) . . .	5 Tr. Helianthin II 2 „ Bismarckbr. 2 „ Methylviolett	4,83	4,83	4,85	4,75
Eine salzsaure, ca. 2 % ige Lösung von zum Teil pepsingespaltenem Eiereiweiß; 16,8 % iger formoltitrierbarer Stickstoff (% von Totalstickstoff) .	2 Tr. Helianthin II ½ „ Bismarckbr.	5,63	5,58	5,60	5,58
Eine ähnliche Lösung, nur ein wenig stärker salzsauer	2 Tr. Helianthin II ½ „ Bismarckbr.	5,27	5,19	5,21	5,21
Eine ähnliche Lösung, nur von tiefer abgebautem Eiweiß, 20,5 % iger formoltitrierbarer Stickstoff	3 Tr. Helianthin II	5,27	5,24	5,24	5,26

Das Methylrot kann also auf Grund der obenerwähnten Befunde als ein vorzüglich geeigneter Indicator zur colorimetrischen Messung der Wasserstoffionenkonzentrationen, die der Zone $p_H = 4{,}2$ bis $p_H = 6{,}3$ entsprechen, empfohlen werden.

Über den Blutfarbstoffaustritt unter dem Einfluß des Kohlenmonoxydes.

Von

F. Bubanović.

(Aus dem physiologischen Laboratorium der Reichs-Universität in Groningen.)

(Eingegangen am 31. Oktober 1911.)

In den bekannten Untersuchungen von Hamburger[1]) über den Einfluß der Kohlensäure (des respiratorischen Gaswechsels) auf die Verteilung der Blutbestandteile auf Blutkörperchen und Blutflüssigkeit, wurde bewiesen, daß mit CO_2 behandeltes Blut in einer stärkeren NaCl-Lösung den beginnenden Farbstoffaustritt anzeigt, als unter normalen Verhältnissen. Diese Erscheinung und ihre physikalisch-chemische Erklärung waren dann der Ausgangspunkt für alle späteren Arbeiten über die Permeabilität der Blutkörperchen.

Es schien von Interesse zu sein, eine Untersuchung darüber anzustellen, wie sich in dieser Beziehung Kohlenmonoxyd gegenüber der Kohlensäure verhält. Dies ist in vorliegender kleinen Arbeit auf folgende Weise durchgeführt:

Zuerst wurde durch defibriniertes Rinderblut $^1/_2$ Stunde gewöhnliches Leuchtgas geleitet und das so behandelte Blut mit normalem defibr. Rinderblute in bezug auf den Blutfarbstoffaustrittt in NaCl-Lösungen verglichen.

---

[1]) Zeitschr. f. Biol. 28, 405, 1892; siehe auch: Osmot. Druck und Ionenlehre in den med. Wiss. 1, 262, 1902.

Zu dem Zwecke wurden zwei Reihen von Zentrifugieröhrchen mit folgenden NaCl-Lösungen (je 10 ccm) aufgefüllt:

0,9 %	0,58 %
0,8 „	0,56 „
0,7 „	0,54 „
0,65 „	0,50 „
0,6 „	0,45 „

In jedes Röhrchen der ersten Reihe kam $^1/_2$ ccm des normalen und in jedes der zweiten Reihe $^1/_2$ ccm des mit Leuchtgas behandelten Blutes. Dann wurden die Röhrchen durchgeschüttelt und 1 Stunde sich selbst überlassen. Nachher wurden die Röhrchen in einer Wasserzentrifuge bis Absetzung der Blutkörperchen zentrifugiert und dann die Farbe der klaren Flüssigkeiten betrachtet und verglichen.

Es stellte sich heraus, daß der beginnende Blutfarbstoffaustritt bei dem normalen Blute in einer NaCl-Lösung von 0,65 % stattfindet, während er bei dem mit Leuchtgas behandelten Blute erst in einer NaCl-Lösung von 0,60 % zum Vorschein kommt. Auch war weiter ein Unterschied in dem Grad der Hämolyse zwischen beiden Reihen zu sehen. Die Hämolyse war beim normalen Blute stärker als in entsprechenden Kochsalzlösungen, wo das mit Leuchtgas behandelte Blut auch seinen Blutfarbstoff austreten ließ.

Dies wurde auch bei Wiederholung des Versuches, immer mit frischem Blute, bestätigt.

Nach diesen Vorversuchen wurde der Einfluß des reinen Kohlenmonoxydes auf den Blutfarbstoffaustritt studiert.

Zu dem Zwecke wurde ein Teil des defibr. Rinderblutes in einer Flasche mit CO gesättigt, der andere Teil mit gewöhnlichem Leuchtgas und der dritte blieb normal. (CO wurde aus Oxalsäure und konz. H_2SO_4 dargestellt, wobei das sich entwickelnde Gasgemisch zuerst durch Lauge geleitet ist, um von CO_2 befreit zu werden.)

Es waren also drei Reihen zu vergleichen. Dabei stellte sich heraus, daß der beginnende Blutfarbstoffaustritt für normales Blut in einer NaCl-Lösung von 0,62 % zustande kam, während er beim CO-Blute und Leuchtgasblute erst in NaCl-Lösung von 0,60 % und 0,59 % zum Vorschein trat. Auch der Grad der

Hämolyse war beim normalen Blute stärker als in den beiden anderen Reihen, die aber miteinander eine Übereinstimmung zeigten.

Beide Erscheinungen wurden beim Wiederholen des Versuches bestätigt.

Als man nach der Ursache dieser Erscheinung suchte, lag es nahe, zu denken, daß durch CO und Leuchtgas der obenerwähnte von Hamburger[1]) konstatierte Einfluß der Kohlensäure, die sich auch im normalen Blute befindet, verhindert wird. Um darüber Klarheit zu erlangen, wurde folgender Versuch eingestellt.

Durch defibr. Rinderblut wurde 1 Stunde von CO_2 (durch Lauge) befreite Luft durchgeführt, um somit die darin vorhandene Kohlensäure zu entfernen. Nachher wurde ein Teil mit Kohlenmonoxyd wie oben behandelt und für hämolytische Versuche benutzt, während der andere als solcher dazu verwendet ist. Diese beiden Blutarten wurden dann in bezug auf den Blutfarbstoffaustritt in Kochsalzlösungen mit ganz normalem defibr. Rinderblute verglichen.

Es stellte sich heraus, daß sowohl das nur durch Luft von von CO_2 befreite Blut, als auch das noch dazu mit CO behandelte in einer schwächeren Kochsalzlösung eher den beginnenden Blutfarbstoffaustritt zeigt, als unter normalen Verhältnissen.

Deswegen ist man berechtigt zu schließen, daß die oben konstatierte Erscheinung hauptsächlich darauf zurückzuführen ist, daß unter dem Einfluß des Kohlenmonoxydes die im normalen Blute vorhandene Kohlensäure herausgetrieben wird und somit die Fähigkeit der roten Blutkörperchen, Wasser in seinen Inhalt aufzunehmen, gesteigert wird. Wahrscheinlich spielt dabei auch die Einwirkung des CO auf die Membrane der Blutkörperchen eine Rolle.

[1]) loc. cit.

Die Bestimmung der Zuckerarten in Naturstoffen[1]).

Von

Carl Neuberg und Migaku Ishida.

(Aus der chemischen Abteilung des Tierphysiologischen Instituts der Kgl. Landwirtschaftlichen Hochschule, Berlin.)

Es unterliegt keinem Zweifel, daß von allen Methoden zur Bestimmung von Zuckerarten das polarimetrische Verfahren obenan steht, was Schnelligkeit und Bequemlichkeit der Ausführung betrifft. Auch an absoluter Genauigkeit kann es mit jeder anderen Methode wetteifern, wenn fremde Stoffe die Drehungswerte nicht entstellen.

Gegen diese selbstverständliche Voraussetzung wird nun — wohl bewußt, aber uneingestandenermaßen — in zahlreichen Fällen verstoßen, nämlich bei Zuckerbestimmungen in tierischen oder pflanzlichen Produkten.

Wohl ist man imstande, den störenden Einfluß von Eiweißkörpern, optisch-aktiven Ölen und Fettstoffen sowie von Alkaloiden auszuschließen. Allen Sachkennern ist es aber nicht neu, daß völlig ein Verfahren fehlt zur genauen Ermittlung von Zucker in Gegenwart von tieferen Eiweißspaltungsprodukten — Peptonen und Aminosäuren wie von Amiden.

Gerade diese Substanzen finden sich nun in den wichtigsten menschlichen und tierischen Nahrungs- und Genußmitteln. So, um einige Beispiele zu nennen, in Gemüsen aller Art, in Gräsern und Futterarten, in Früchten, in genußfähigem Fleisch, und angereichert in allen jenen zahlreichen Präparaten, die

---

[1]) Vorgetragen in der Sitzung der Physiologischen Gesellschaft zu Berlin am 20. Oktober 1911.

für Nährzwecke durch Konzentration aus den genannten tierischen und pflanzlichen Erzeugnissen hergestellt werden. Auch Produkte von technisch und wissenschaftlich höchstem Interesse fallen in die Gruppe, wie Zuckersäfte und Melassen, ferner viele Verdauungsgemische und Körperflüssigkeiten.

Der Grund, warum man bisher sich ruhig der polarimetrischen Bestimmung der Zuckerarten in den genannten Gemengen bedient hat, ist darin gelegen, daß auch die auf Reduktion von Kupfer- oder Quecksilbersalzen beruhenden Verfahren in den erwähnten Fällen keine genaueren Resultate geben, da jene Beimengungen teils Kupferoxydul in Lösung halten, teils aber von den Metallverbindungen gleichfalls oxydiert werden. Hinzu kommt, daß man, sobald es sich um die Analyse von Zuckergemischen handelt, der Kombination von Reduktions- und Drehungsbestimmungen oft nicht entraten kann.

Der naheliegende Gedanke, die störenden Aminosäuren und Amide durch Ausfällung — wie etwa Eiweiß — zu entfernen, ist unausführbar gewesen, da kein geeignetes Fällungsmittel bekannt war. Mit dem am meisten benutzten Bleiacetat[1]) hat man das beabsichtigte Ergebnis am allerwenigsten erreicht. Denn Bleizucker und Bleiessig fällen die meisten Aminosäuren und Aminosäurenamide überhaupt nicht, einige nur zum geringen Teil; wohl aber bringen sie durch ihre die Drehung steigernde oder umkehrende Wirkung auf Zucker und auch auf Aminosäuren (s. S. 151) noch stärkere und unübersehbare Entstellungen des polarimetrischen Bildes zuwege!

Zwei Beobachtungen nun, die der eine von uns in den letzten Jahren gemacht hat, ermöglichen eine so vollständige Entfernung von Aminosäuren (und Peptonen) und Amiden (Asparagin, Glutamin), daß die optische Bestimmung der Zuckerarten in solchen Gemengen nicht mehr fehlerhaft ist.

Diese Beobachtungen beziehen sich erstens auf das ganz unerwartet hohe Fällungsvermögen[2]) des reinen Mercuriacetats

---

[1]) Bleiessig oder Bleisubacetat plus Ammoniak sollten wegen ihres Zuckerfällungsvermögens nicht in Betracht kommen, doch ist ersterer für manche Methoden direkt vorgeschrieben.

[2]) C. Neuberg, diese Zeitschr. 24, 171 u. 429, 1910. — C. Neuberg, Der Harn, Handbuch, Berlin 1911, S. 328, 331 u. 333; ferner C. Neuberg und A. Loewy, Zeitschr. f. physiol. Chem. 43, 350, 1904; C. Neuberg

für Eiweißspaltungsprodukte, wenn es in hoher Konzentration und bei genau (durch Natriumcarbonat) hergestellter neutraler Reaktion zur Anwendung gelangt. Dabei wird keine einzige Zuckerart auch nur spurenweise mitgerissen. Zweitens erwies sich der Befund[1]) von großer Brauchbarkeit, daß von fremden Mineralsäuren freie Phosphorwolframsäure bei Zimmertemperatur Rohrzucker sowie andere Disaccharide und auch höhere Zucker nicht im geringsten hydrolysiert, wenn ihre Menge nicht zu groß ist und ihre Einwirkung eine gewisse Zeit (eine bis mehrere Stunden) nicht überdauert.

Trotz des hohen Fällungsvermögens vermag Mercuriacetat freilich nicht alle drehenden Eiweißabkömmlinge aus Lösungen zu entfernen. Läßt man jedoch der Behandlung mit Mercuriacetat eine solche mit Phosphorwolframsäure folgen, so wird praktisch alle drehende Substanz aus Lösungen der Eiweißspaltungsprodukte beseitigt. Die im folgenden angeführten zahlreichen Versuche mit vollständig und teilweise aufgespaltenen pflanzlichen und tierischen Proteinen bekräftigten dieses.

Das Prinzip unseres neuen Verfahrens ist also die kombinierte Fällung der Gemenge erst mit Mercuriacetat, dann mit Phosphorwolframsäure.

Die Reihenfolge hat sich nicht als gleichgültig erwiesen. Die Behandlung mit Quecksilberacetat muß in der Regel der mit Phosphorwolframsäure voraufgehen.

Beide Reagenzien werden in rein wässeriger Lösung angewendet. Die Mercuriacetatlösung wählt man zweckmäßig $50^0/_0$ig; sie wird ohne Erhitzung, höchstens durch Erwärmen des käuflichen Salzes mit Wasser auf 40^0, bereitet, um eine Ausscheidung von Quecksilberoxyd durch hydrolytische Dissoziation zu vermeiden. Die Phosphorwolframsäurelösung[2]) wird etwa $25^0/_0$ig[3]) genommen und ohne Zusatz einer fremden

---

und P. Mayer, Zeitschr. f. physiol. Chem. 44, 503, 1905. An diesen Stellen ist ausgeführt, daß Aminosäuren usw. gegenüber das Fällungsvermögen von essigsaurem Quecksilber weit höher ist als das von $HgCl_2$, $Hg(NO_3)_2$, $HgSO_4$, $HgJ_2 . KJ$ usw., aus leicht ersichtlichen Gründen.

[1]) C. Neuberg, diese Zeitschr. 3, 525, 1907.

[2]) Bezüglich Darstellung einer wohlfeilen Phosphorwolframsäure s. S. 169.

[3]) Manchmal ist $50^0/_0$ige Phosphorwolframsäure noch geeigneter.

Mineralsäure hergestellt. Letztere darf nicht zugegen sein, dagegen schadet die geringe Trübung bei dem käuflichen Präparate nichts; läßt man 24 Stunden ruhig stehen, so kann man eine völlig klare Phosphorwolframsäurelösung abziehen.

Diese konzentrierten Reagenzien besitzen nicht nur ein großes Fällungsvermögen, sondern ergeben auch Niederschläge, die sich nach wenigen Minuten klar und leicht abfiltrieren[1]) lassen.

Neben der Fällung von Eiweißspaltungsprodukten schlagen die beiden Reagenzien auch Purine, Alkaloide, Nucleinsäuren, Phosphatide und Farbstoffe nieder, so daß sie zugleich eine ideale Entfärbung zuwege bringen, die der durch Bleisalze z. B. oft überlegen ist und auch dort zum Ziele führt, wo jene versagt.

Daß eine besondere Enteiweißung bei unserer Mercuriacetat-Phosphorwolframsäure unnötig ist, bedarf kaum der Erwähnung. Bei sehr eiweißreichen Lösungen wird man sie jedoch der Aminosäurenfällung vorausschicken, um an den Reagenzien Quecksilberacetat und Phosphorwolframsäure zu sparen. Letztere fällen aber auch einige sonst schwer entfernbare, namentlich nicht koagulable, Eiweißabkömmlinge, wie Nucleoproteide, Albumosen und Peptone. Besonders hervorgehoben werden muß, daß Mercuriacetat nicht durch die äquivalenten Mengen Quecksilberchlorid und Natriumacetat ersetzt werden kann, weil das entstehende Natriumchlorid lösend auf die Quecksilberfällungen wirkt, wenn es in größeren Quantitäten vorhanden ist.

Die Bemessung der nötigen Mengen von den beiden Reagenzien gestaltet sich außerordentlich einfach, da es sich als am vorteilhaftesten erwiesen hat, von beiden bis zur beendeten Ausfällung — jedoch unter Vermeidung eines wesentlichen Überschusses[2]) — zuzusetzen. Es ist dabei meist nötig, den durch das 50%ige Mercuriacetat erzeugten Niederschlag abzufiltrieren, bevor man vorsichtig von der 25 bzw. 50%igen Phosphorwolframsäure zugibt. Die Ausfällung nimmt man zweck-

[1]) Bei den Phosphorwolframsäurefällungen sind Barytfilter empfehlenswert; sehr geeignet sind dichte weiche, etwas faserige Filtrierpapiere.

[2]) Für die Monosaccharide ist ein kleiner Überschuß auch an Phosphorwolframsäure belanglos; zu vermeiden ist er dagegen bei Zuckern vom Typus der Saccharose und Raffinose.

mäßig in graduierten Meßzylindern mit eingeschliffenen Glasstopfen vor.

Die Erklärung für die besondere Wirksamkeit der beiden Reagenzien Mercuriacetat plus Phosphorwolframsäure hinsichtlich der Entfernung optisch-aktiver Aminosäuren, Amide und höherer Aminosäurenverbände ist darin gelegen, daß bisher kein Mittel von solchem Fällungsvermögen bekannt war, wie die Kombination dieser beiden Reagenzien. Die Rolle der Phosphorwolframsäure ist klar. Sie entfernt sämtliche Diaminosäuren (Argininin, Lysin, Histidin) sowie einen Teil mancher Mono- und Oxyaminosäuren (z. B. Prolin und Phenylalanin) und auch Peptone bei der hohen Konzentration, in der sie zur Anwendung kommt. Das Mercuriacetat vermag nun mehr oder minder vollständig, wie teils bekannt, teils erst besonders festgestellt ist, Tyrosin, Phenylalanin, Tryptophan, Prolin, Cystin, Asparaginsäure, Glutaminsäure, Asparagin, Glutamin, ferner auch Histidin und Peptone aus Lösungen zu fällen. Wie man sieht, werden sehr viele drehende Eiweißabkömmlinge ohne weiteres niedergeschlagen. Es hat jedoch den Anschein, als ob auch die an sich nicht fällbaren Aminosäuren mit niedergerissen werden, wenn sie sich im Gemisch mit den fällbaren Eiweißspaltungsprodukten befinden[1]). Besonders vollständig erfolgt die Ausfällung der Aminosäuren durch Mercuriacetat, wenn sie aus ganz schwach sodaalkalischer Lösung geschieht; durch Zusatz von essigsaurem Quecksilber tritt sofort wieder saure Reaktion ein.

An der Hand von Stickstoffbestimmungen im Filtrat der Mercuriacetat- plus Phosphorwolframsäureniederschläge kann man feststellen, daß bis 92% des Totalstickstoffs durch Mercuriacetat plus Phosphorwolframsäure aus einem Gemische der hydrolytischen Spaltungsprodukte eines Proteins ausgefällt werden können. Die in die Niederschläge eingehende Stickstoffmenge ist jedoch nicht immer so groß[2]); man muß daher auch in

[1]) Man vergleiche die von E. Fischer und E. Abderhalden (Zeitschr. f. physiol. Chem. 42, 540, 1904) beobachtete Mitfällung des in Wasser spielend leicht löslichen Lysins durch Tyrosin.

[2]) Zu bedenken ist auch, daß der als NH_3 in den Hydrolysengemischen vorhandene Stickstoff durch die Reagenzien nicht völlig gefällt wird; denn Ammonsalze werden durch Mercuriacetat und Phosphorwolframsäure nur teilweise niedergeschlagen.

Betracht ziehen, daß unter dem Einflusse des essigsauren Quecksilbers und der Phosphorwolframsäure schwach oder gar nicht drehende Aminosäuren-Mercuriverbindungen oder -Phosphorwolframate in der Lösung entstehen.

Wie dem auch sei, in praxi gestattet das neue Verfahren die ausreichende Reinigung der Zuckerlösungen von optisch-aktiven Beimengungen, die zu den niederen Spaltungsprodukten der Eiweißkörper und zu den Amiden (oder Alkaloiden) gehören, kurz von den drehenden N-haltigen Extraktivstoffen. Auch Nucleinsäuren und Phosphatide werden, wie erwähnt, entfernt.

Nichts steht natürlich im Wege, gegebenenfalls auch noch eine Fällung mit Bleiacetat oder einem anderen Reagens einzuschalten, etwa zur Entfernung optisch-aktiver Pflanzensäuren u. dgl. Für die Beseitigung der am meisten störenden N-haltigen Produkte ist das jedoch gänzlich überflüssig, ja unter Umständen schädlich (s. S. 143, 151). — Bei einer abnormen Zusammensetzung der N-haltigen optisch-aktiven Stoffe könnte sich auch eine andere Konzentration der Fällungsmittel als geeigneter erweisen. Für Futtermittel usw., wo Amide in erster Linie in Betracht kommen, ist jedoch die angegebene Ausführungsform die beste.

Selbstverständlich kann man die Zucker in den Endlösungen auch gravimetrisch bestimmen; man muß dann die Phosphorwolframsäure durch Bleiacetat (oder Baryt) und das Quecksilber (sowie überschüssiges Blei) durch Schwefelwasserstoff oder in sonst geeigneter Weise entfernen.

Das neue Verfahren haben wir auf Grund zahlreicher Versuche ausgearbeitet, deren Resultate wir im Auszuge wiedergeben. Nachdem die Wirksamkeit der kombinierten Anwendung von 50%igem Mercuriacetat und 25%iger Phosphorwolframsäure erkannt war, haben wir keinen einzigen Mißerfolg zu verzeichnen gehabt.

Die ausgeführten Versuche mögen in 5 Gruppen geordnet werden.

Die erste Gruppe enthält die Beschreibung von Experimenten, die zeigen, daß jedes der Reagenzien allein ein Aminosäurengemisch nicht optisch-inaktiv macht.

Die zweite Gruppe von Versuchen tut dar, daß bei kombinierter Fällung eines Gemenges sämtlicher Eiweißspaltungsprodukte durch Mercuriacetat und Phosphorwolframsäure ein nicht mehr drehendes, wasserklares Filtrat entsteht.

In der dritten Gruppe sind die Versuche vereint, in denen die verschiedensten Gemische von natürlich vorkommenden Zuckerarten mit hydrolytischen Eiweißspaltungsprodukten her-

gestellt wurden. Es wird für diese gezeigt, daß nach voraufgegangener Behandlung mit Mercuriacetat plus Phosphorwolframsäure Flüssigkeiten von solchem Drehungsvermögen resultieren, wie die reinen Zuckerlösungen für sich bei der gleichen Konzentration aufweisen. Es wird also jede optische Aktivität N-haltiger Substanzen beseitigt, ohne daß ein Zuckerverlust eintritt.

Die vierte Gruppe umfaßt Versuche über die Ausfällung von Amiden (Asparagin, Glutamin), Nucleinsäuren und Phosphatiden, die zum Teil schon durch Mercuriacetat allein niedergeschlagen werden. Ebenso verhalten sich verschiedene nicht koagulable Eiweißkörper, wie Nucleoproteide, ferner Albumosen.

Die fünfte Gruppe bringt die vorläufige Nutzanwendung auf ein praktisch besonders wichtiges Gebiet, auf die Bestimmung des Zuckers in verschiedenen Melassen.

Um den natürlichen Verhältnissen möglichst nahe zu kommen, schien es uns notwendig, nicht durch Zusatz einer einzelnen Aminosäure oder eines Amids zu Zuckerlösungen deren Drehungsvermögen zu verändern, sondern durch Zugabe von Gemengen mit allen optisch aktiven Eiweißbausteinen zu den Kohlenhydraten das zu entwirrende optisch-aktive Gemisch herzustellen. Denn in den Naturstoffen sind fast immer mehrere oder gar die meisten Aminosäuren gleichzeitig gefunden worden.

Wir nahmen ein pflanzliches Eiweiß (Gliadin) und ein tierisches (Casein). Für diese Auswahl war maßgebend, daß nur solche Proteine für die Prüfung geeignet waren, die keine Kohlenhydratgruppe enthalten; den beiden genannten Eiweißkörpern fehlt sie.

Durch 10stündige Hydrolyse mit 40%iger Schwefelsäure wurde aus Casein wie aus Gliadin ein Aminosäurengemisch bereitet, das in bekannter Weise durch Baryt genau von H_2SO_4 befreit worden ist. Das Filtrat vom gut ausgewaschenen Bariumsulfatniederschlag wurde alsdann auf dem Wasserbade eingeengt.

Aus Casein wurde außerdem noch ein tryptisches Verdauungsgemisch hergestellt; die Einwirkung des Enzyms war auf 8 Wochen ausgedehnt gewesen. Sämtliche Aminosäurengemische waren nach dem Eindampfen gelb bis hellbräunlich.

In unseren Protokollen ist das durch H_2SO_4-Hydrolyse gewonnene Gemenge aus Casein als A-Aminosäurenlösung bezeichnet, das aus Gliadin als D-Aminosäurenlösung und das tryptisch verdaute Caseingemenge als C-Aminosäurenlösung.

100 ccm A-Aminosäurenlösung enthielten 1,602 g N, entsprechend den Aminosäuren aus 10,20 g Casein.
100 ccm C-Aminosäurenlösung enthielten 1,626 g N, entsprechend den Aminosäuren usw. aus 10,35 g Casein.
100 ccm D-Aminosäurenlösung enthielten 3,138 g N, entsprechend den Aminosäuren aus 17,75 g Gliadin.

Gruppe 1.

a) In einem fein graduiertem Meßzylinder (von 25,0 bis 50,0 ccm Inhalt) wurden gemischt

5,0 ccm A-Aminosäurenlösung und
10,0 „ Mercuriacetatlösung[1]).

Nach 5 Minuten wurde filtriert; das wasserhelle klare Filtrat zeigte eine Linksdrehung, entsprechend $-0{,}4\,\%$ Glucose[2]).

b) Die im gleichen Gefäß hergestellte Mischung von

5,0 ccm A-Aminosäurenlösung und
10,0 „ H_2O

zeigte eine Linksdrehung $= -1{,}0\,\%$.

c) 5,0 ccm A-Aminosäurenlösung und
13,0 „ Phosphorwolframsäure[1])

wurden gemischt. Das nach 5 Minuten erhaltene klare Filtrat war linksdrehend entsprechend $-0{,}4\,\%$.

d) 5,0 ccm A-Aminosäurenlösung und
13,0 „ H_2O

gaben eine Flüssigkeit, die $-0{,}8\,\%$ nach links drehte.

---

e) 5,0 ccm C-Aminosäurenlösung und
10,0 „ Mercuriacetatlösung

wurden gemischt. Das klare Filtrat war linksdrehend $= -2{,}0\,\%$.

f) Das Gemisch von

5,0 ccm C-Aminosäurenlösung und
10,0 „ H_2O

zeigte eine Linksdrehung von $-3{,}2\,\%$.

---

[1]) Die Mengen von Mercuriacetat und Phosphorwolframsäure sind so bemessen, daß völlige Ausfällung eingetreten war. Bei den ersten Versuchen sind 5%ige Lösungen der Reagenzien verwendet, da die viel bequemere und sicherere Anwendung der 5 bis 10mal konzentrierteren Lösungen erst später erkannt worden ist.

[2]) Der Einfachheit wegen wurde zu allen Versuchen ein Prozente Traubenzucker anzeigender, mit Auerlicht beleuchteter Quarzkeilpolarisationsapparat benutzt; die verwendeten Polarisationsröhren hatten 1 dcm Länge.

g) Mischt man

5,0 ccm C-Aminosäurenlösung mit
12,0 „ Phosphorwolframsäurelösung

so zeigt die filtrierte Flüssigkeit eine Drehung $= -0{,}5°/_0$.

h) Setzt man zu

5,0 ccm C-Aminosäurenlösung
12,0 „ H_2O,

so zeigt das Gemisch Linksdrehung von $-2{,}8°/_0$.

---

i) Es wurden gemischt

5,0 ccm D-Aminosäurenlösung und
20,0 „ Mercuriacetatlösung.

Die Drehung der klar filtrierten Lösung betrug $-0{,}7°/_0$.

k) Das Gemisch von

5,0 ccm D-Aminosäurenlösung mit
20,0 „ Wasser

dreht $= -1{,}6°/_0$.

l) Gibt man zu

5,0 ccm D-Aminosäurenlösung
20,0 „ Phosphorwolframsäurelösung,

so zeigt die filtrierte Lösung Linksdrehung von $-0{,}4°/_0$.

m) Setzt man zu

5,0 ccm D-Aminosäurenlösung
20,0 „ Wasser,

so beträgt die Linksdrehung $-1{,}6°/_0$.

Wie ersichtlich, bringen weder Mercuriacetat- noch Phosphorwolframsäurelösung für sich die Drehung zum Verschwinden.

Daran wird auch nichts geändert, wenn man wechselnde Mengen von Mineralsäuren zugibt oder die durch das Mercuriacetat erzeugte saure Reaktion durch Alkalien oder Erdalkalien abstumpft. Wendet man die Reagenzien Phosphorwolframsäure und essigsaures Quecksilber in fester Form an, so wird nicht mehr optisch-aktive Substanz ausgefällt als bei Benutzung der angegebenen Lösungen.

Zum Vergleich haben wir an denselben Aminosäurengemischen eine Behandlung mit Bleisalzen vorgenommen, wie es z. B. bei der Untersuchung von Rübensäften und Melassen üblich ist, wo Bleiessig vorgeschrieben ist. Dabei zeigte sich, wie ungeeignet die meist in der

analytischen Methodik benutzten Klärungen durch Bleisalze, speziell durch Bleiessig, sind, sobald optische Untersuchungen in Frage kommen.

n) Man versetzt

5,0 ccm A-Aminosäurenlösung mit
10,0 „ Bleiessig und mit
10,0 „ H_2O.

Die von einem leichten Niederschlag abfiltrierte Flüssigkeit zeigt Linksdrehung $= -0{,}8\,\%$.

o) Dagegen dreht die Mischung von

5,0 ccm A-Aminosäurenlösung mit
20,0 „ H_2O

$= -0{,}6\,\%$.

---

p) Beim Zusammenbringen von

5,0 ccm D-Aminosäurenlösung mit
10,0 „ Bleiessig und mit
10,0 „ H_2O

fiel nichts aus; ein Niederschlag entstand erst auf Zugabe von etwas festem Natriumcarbonat.

Das Filtrat drehte $= -1{,}8\,\%$.

q) Das Gemisch von

5,0 ccm D-Aminosäurenlösung und
20,0 „ Wasser

drehte nur $= -1{,}6\,\%$.

---

r) Mischt man

5,0 ccm C-Aminosäurenlösung mit
12,0 „ Bleiessig,

so beträgt die Drehung $-3{,}6\,\%$.

s) Die Mischung von

5,0 ccm C-Aminosäurenlösung und
12,0 „ H_2O

dreht $= -2{,}8\,\%$.

Durchgehends sieht man also eine Steigerung der Linksdrehung des Aminosäurengemisches durch Bleisalze, ähnlich wie es für N-freie Substanzen vielfach und auch für einzelne Aminosäuren (Degener, Pellet, Ehrlich, Andrlik) beobachtet ist.

Da die ursprüngliche Linksdrehung unter dem Einfluß von Bleisalzen wächst, so kann ihre Verwendung bei Bestimmung von rechtsdrehenden Zuckern in Aminosäurengemengen größere Fehler bedingen, als die Fortlassung jeder Vorbehandlung.

Gruppe 2.

Die Aminosäurengemische, die — nach den Versuchen der Gruppe 1 — durch Zusatz einer 50%igen (oder dünneren) Lösung von Mercuriacetat oder 25%iger Phosphorwolframsäure nicht ihre

optische Aktivität verlieren, wurden dann der kombinierten Wirkung beider Reagenzien ausgesetzt.

a) Man gibt zu

5,0 ccm A-Aminosäurenlösung
10,0 „ Mercuriacetatlösung.

Man filtriert und versetzt

10,0 ccm Filtrat mit
3,0 „ Phosphorwolframsäurelösung.

Das klare Filtrat zeigt nun keine Drehung mehr.

b) Zur Kontrolle mischt man

5,0 ccm A-Aminosäurenlösung mit
10,0 „ H_2O

und versetzt

10,0 ccm des Gemisches mit
3,0 „ H_2O.

Die Drehung beträgt hier $-0{,}75\,^0/_0$.

---

c) Man gibt zu

20,0 ccm A-Aminosäurenlösung
50,0 „ Mercuriacetatlösung.

Man filtriert und setzt zu

16,0 ccm Filtrat
10,0 „ Phosphorwolframsäurelösung.

Nach erneuter Filtration ist die Drehung $= 0$.

d) Fügt man aber zu

20,0 ccm A-Aminosäurenlösung
50,0 „ Wasser

und setzt dann zu

16 ccm der Mischung
10 „ H_2O,

so zeigt die Flüssigkeit nunmehr eine Linksdrehung $= -0{,}55\,^0/_0$.

---

e) Man mischt

20,0 ccm C-Aminosäurenlösung und
70,0 „ Mercuriacetatlösung,

dann filtriert man und mischt

18,0 ccm Filtrat mit
12,0 „ Phosphorwolframsäurelösung.

Die klar filtrierte Flüssigkeit weist dann die Drehung 0 auf.

f) Zur Kontrolle gibt man zu

20,0 ccm C-Aminosäurenlösung
70,0 „ H_2O

und dann zu

18,0 ccm der gut gemischten Flüssigkeit
12,0 „ H_2O.

Die Lösung zeigt dann die Drehung $= -1{,}3°/_0$.

---

g) Man versetzt

5,0 ccm D-Aminosäurenlösung mit
20,0 „ Mercuriacetatlösung.

Zu

15,0 ccm klaren Filtrats fügt man
10,0 „ Phosphorwolframsäurelösung.

Die abermals filtrierte Flüssigkeit polarisiert: 0.

h) Als Kontrolle wurden

5,0 ccm D-Aminosäurenlösung und
20,0 „ H_2O gemischt;

von diesem Gemisch versetzt man dann

15,0 ccm mit
10,0 „ H_2O

und findet eine Drehung $= -1{,}0°/_0$.

Diese als Proben angeführten Beispiele illustrieren hinreichend, daß durch die kombinierte Anwendung der beiden Fällungsmittel Mercuriacetat + Phosphorwolframsäure in der angegebenen Reihenfolge die Aminosäurengemische ihre optische Aktivität einbüßen.

Gruppe 3.

Bevor die Anwendung der neuen Methode auf künstliche Gemische von Zuckerarten und Aminosäurengemenge studiert werden konnte, mußte festgestellt werden, ob die (ja im kleinen Überschuß) zur Benutzung kommenden Reagenzien Mercuriacetat und Phosphorwolframsäure etwa das Drehungsvermögen der Kohlenhydrate beeinflussen.

Aus unseren Versuchen, von denen wir einzelne beschreiben, geht hervor, daß Mercuriacetat und Phosphorwolframsäure ohne jede Einwirkung auf die optische

Aktivität der Kohlenhydrate sind. Darin liegt ein großer Vorteil vor der Verwendung von Bleisalzen[1]).

A. Einfluß von Mercuriacetat und Phosphorwolframsäure auf verschiedene Zucker.

I. d-Glucose.

α) Man mischt

10,0 ccm 7%ige Traubenzuckerlösung mit
10,0 „ H_2O.

Drehung = + 3,5%.

β) Man versetzt

10,0 ccm 7%ige Traubenzuckerlösung mit
10,0 „ Mercuriacetatlösung.

Drehung = + 3,5%.

γ) Man gibt zu

10,0 ccm 7%iger Traubenzuckerlösung
10,0 „ Phosphorwolframsäurelösung.

Drehung = + 3,5%.

II. d-Fructose.

α) Man gibt zu

10,0 ccm 5%iger Fruchtzuckerlösung
10,0 „ H_2O.

Drehung entsprechend — 4,5% Glucose.

β) Man versetzt

10,0 ccm 5%ige Fructoselösung mit
10,0 „ Mercuriacetatlösung.

Drehung = — 4,5%.

γ) Man mischt

10,0 ccm 5%ige Fruchtzuckerlösung mit
10,0 „ Phosphorwolframsäurelösung.

Drehung = — 4,5%.

III. Saccharose.

α) Man mischt

5,0 ccm etwa 5,5%ige Rohrzuckerlösung mit
5,0 „ H_2O.

Drehung entsprechend + 3,45% Glucose.

---

[1]) Für Rohrzucker und d-Glucose liegen bereits Angaben vor, aus denen zu entnehmen ist, daß sie durch Phosphorwolframsäure nicht geschädigt werden. (C. Scheibler, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 5, 801, 1872; B. Oppler, Zeitschr. f. physiol. Chem. 64, 393, 1910.)

β) Man versetzt

5,0 ccm ca. 5,5%ige Rohrzuckerlösung mit
5,0 „ Mercuriacetatlösung.

Drehung = + 3,45%.

γ) Man gibt zu

5,0 ccm ungefähr 5,5%iger Rohrzuckerlösung
5,0 „ Phosphorwolframsäure.

Die Drehung beträgt = + 3,4%.

IV. Maltose.

α) Man mischt

10,0 ccm etwa 4,0%ige Maltoselösung mit
10,0 „ Wasser.

Die Drehung entspricht + 5,2% Glucose.

β) Man versetzt

10,0 ccm 4,0%ige Maltoselösung mit
10,0 „ Mercuriacetatlösung.

Drehung = + 5,2%.

γ) Man gibt zu

10,0 ccm 4,0%iger Maltoselösung
10,0 „ Phosphorwolframsäurelösung.

Drehung = + 5,2%.

V. Raffinose.

α) Man gibt zu

10,0 ccm ca. 6,8%iger Raffinoselösung
10,0 „ Wasser.

Die Drehung entspricht dann + 6,8% Glucose.

β) Man mischt

10,0 ccm derselben Raffinoselösung und
10,0 „ Mercuriacetatlösung.

Die Drehung ist = + 6,8% Traubenzucker.

γ) Man versetzt

10,0 ccm der gleichen Raffinoselösung mit
10,0 „ verd. Phosphorwolframsäurelösung.

Nach 10 Minuten beobachtet man die Drehung + 6,8% Glucose.

Wie schon früher erwähnt (vgl. S. 144), invertiert reine Phosphorwolframsäure bei Zimmertemperatur den Rohrzucker nicht, wenn man nicht allzu lange wartet.

Selbst bei einem Gehalt an 5% freier Phosphorwolframsäure in der Flüssigkeit ist nach 20 bis 30 Minuten bis 1 Stunde keine Drehungsänderung und kein Eintritt eines Reduktionsvermögens beim Rohrzucker zu erkennen. Nach 3 Stunden kann man den Beginn einer Spaltung konstatieren, nach $3^1/_2$ Stunden ist sie deutlich.

Maltose und Milchzucker werden noch langsamer hydrolysiert. Bei der Raffinose tritt innerhalb 20 bis 30 Minuten keine Veränderung ein, nach 1 Stunde ist jedoch der Beginn der Spaltung zu erkennen.

Da man die Phosphorwolframsäurefällungen nach 5 Minuten bequem abfiltrieren kann, hat man also selbst bei der empfindlichen Raffinose reichlich Zeit, die Polarisationen in Ruhe ausführen zu können.

Es empfiehlt sich, die Ablesungen sofort vorzunehmen, sobald man genug klaren Filtrats vom Phosphorwolframsäureniederschlag hat. Denn beim Stehen treten manchmal wieder Trübungen infolge nachträglicher Ausscheidung minimaler Mengen Phosphorwolframate auf; hat man die Phosphorwolframsäurefällung zuvor gut durchgeschüttelt, so ist die Gefahr einer Nachtrübung jedoch gering.

B. Anwendung auf Traubenzucker.

α) 1,45 g angenähert wasserfreier Traubenzucker[1]) wurden in
5,0 ccm A-Aminosäurenlösung gelöst; dazu wurden
20,0 „ Mercuriacetatlösung
gesetzt. Nach 5 Minuten wird filtriert und zu
15,0 ccm klaren Filtrats werden
5,0 „ Phosphorwolframsäurelösung
gefügt.

Die Drehung, die hier wegen der Multirotation erst nach 30 Stunden abgelesen wurde, betrug $+4{,}35\%$.

β) Zur Kontrolle wurden
1,45 g derselben d-Glucose in
25,0 ccm Wasser
gelöst. Von dem Gemisch wurden

[1]) Die hier und in allen folgenden Beispielen verwendeten Zuckermengen waren im Aminosäurenversuch und entsprechenden Kontrollversuch mit Wasser absolut gleich, die Originalkonzentration dagegen nur roh bestimmt. Denn es kam ja nur auf die Enddrehung an. Diese ist stets in Prozenten Traubenzucker angegeben.

15,0 ccm mit
5,0 „ H_2O versetzt.
Drehung (nach 30 Stunden) = + 4,4%.

γ) Man versetzt
5,0 ccm ca. 18,5%ige Traubenzuckerlösung[1]) mit
5,0 „ A-Aminosäurenlösung und
20,0 „ Mercuriacetatlösung.
Man filtriert und gibt zu
15,0 ccm Filtrat
5,0 „ Phosphorwolframsäurelösung.
Die Drehung beträgt nach der Filtration + 2,3%.

δ) Zur Kontrolle mischt man
5,0 ccm derselben etwa 18,5%igen Traubenzuckerlösung mit
25,0 „ H_2O;
hiervon entnimmt man dann
15,0 ccm und gibt
5,0 „ H_2O hinzu.
Die Drehung beträgt dann + 2,3%.

ε) Man löst 1,9 g Traubenzucker in
5,0 ccm C-Aminosäurenlösung und gibt
30,0 „ Mercuriacetatlösung
hinzu. Dann setzt man zu
20,0 ccm Filtrat
14,0 „ Phosphorwolframsäurelösung.
Das klare Filtrat zeigt nach 30 Stunden die Drehung + 3,1%.

ζ) Zur Kontrolle löst man 1,9 g derselben d-Glucose in
35,0 ccm Wasser.
20,0 „ dieser Lösung werden dann mit
14,0 „ H_2O versetzt; man erhält eine Flüssigkeit, die = + 3,2% dreht.

η) Man versetzt
5,0 ccm etwa 18%ige Traubenzuckerlösung mit
5,0 „ C-Aminosäurenlösung und mit
30,0 „ Mercuriacetatlösung.

[1]) Siehe die Anm. auf S. 156.

Dann gibt man zu
10,0 ccm klaren Filtrats
7,0 „ Phosphorwolframsäurelösung.
Nach der Filtration beträgt die Drehung $+1{,}3°/_0$.

ϑ) Die Kontrolle wird in der Weise ausgeführt, daß man
5,0 ccm derselben ca. $18°/_0$igen Traubenzuckerlösung mit
35,0 „ Wasser versetzt und von der Mischung dann
10,0 „ mit
7,0 „ H_2O mengt.
Man erhält dann eine Drehung von $+1{,}3°/_0$.

ι) Man löst 1,90 g Traubenzucker in
5,0 ccm D-Aminosäurenlösung und gibt
20,0 „ Mercuriacetatlösung hinzu.
Darauf fällt man
15,0 ccm klaren Filtrates mit
10,0 „ Phosphorwolframsäurelösung.
Das Filtrat dreht dann $= +4{,}6°/_0$.

$\varkappa$) Zur Kontrolle werden ebenfalls 1,90 g Traubenzucker in
25,0 ccm H_2O gelöst. Hiervon entnimmt man
15,0 „ und versetzt mit
10,0 „ H_2O.
Die Drehung ist alsdann $+4{,}5°/_0$.

λ) Man mischt
5,0 ccm etwa $21°/_0$ige Traubenzuckerlösung mit
5,0 „ D-Aminosäurenlösung und fällt mit
20,0 „ Mercuriacetatlösung.
Dann filtriert man und versetzt
15,0 ccm Filtrat mit
10,0 „ Phosphorwolframsäurelösung.
Das Filtrat zeigt die Drehung $= +2{,}1°/_0$.

μ) Die Kontrolle wird in der Weise ausgeführt, daß
5,0 ccm derselben ca. $21°/_0$igen Traubenzuckerlösung mit
25,0 „ H_2O versetzt und von dieser Mischung dann
15,0 „ mit
10,0 „ H_2O verdünnt werden.
Die beobachtete Drehung war $+2{,}05°/_0$.

C. Anwendung auf Maltose.

a) Man mischt

5,0 ccm 12%ige Maltoselösung,
5,0 „ A-Aminosäurenlösung und
20,0 „ Mercuriacetatlösung.

Man filtriert und fällt

15,0 ccm klares Filtrat mit
5,0 „ Phosphorwolframsäurelösung.

Nach abermaliger Filtration beträgt die Drehung $+3{,}85\,\%$.

β) Zur Kontrolle mischt man

5,0 ccm derselben Maltoselösung[1]) mit
25,0 „ H_2O

und entnimmt hiervon

15,0 ccm, die man mit
5,0 „ H_2O versetzt.

Man findet dann die Drehung $= +3{,}85\,\%$.

γ) Man versetzt

5,0 ccm ungefähr 12,5%ige Maltoselösung mit
5,0 „ C-Aminosäurenlösung und
30,0 „ Mercuriacetatlösung.

Von dem klaren Filtrat entnimmt man

10,0 ccm und fällt mit
7,0 „ Phosphorwolframsäurelösung.

Die Drehung ist dann $= +2{,}4\,\%$.

δ) Die Kontrolle wird in der Weise ausgeführt, daß

5,0 ccm Maltoselösung erst mit
35,0 „ H_2O versetzt werden.

Von dieser Mischung nimmt man dann

10,0 ccm und gibt hinzu
7,0 „ H_2O.

Die Drehung entspricht dann $+2{,}45\,\%$.

ε) Man mischt

5,0 ccm 12%iger Maltoselösung,
5,0 „ D-Aminosäurenlösung und
20,0 „ Mercuriacetatlösung.

[1]) oder man füllt — was das gleiche ist — 5,0 ccm der Maltoselösung mit Wasser direkt auf 40,0 ccm auf.

Man filtriert klar und fällt

15,0 ccm Filtrat mit

10,0 „ Phosphorwolframsäurelösung.

Das Filtrat dreht dann $= +3{,}1\,\%$.

ζ) Zur Kontrolle werden

5,0 ccm Maltoselösung auf

50,0 „ mit H_2O aufgefüllt.

Die Drehung ist dann $= +3{,}15\,\%$.

D. Anwendung auf Milchzucker.

α) 10,0 ccm $14{,}5\,\%$ige Lactoselösung werden mit

5,0 „ A-Aminosäurenlösung und mit

5,0 „ Mercuriacetatlösung[1])

gemischt. Man filtriert und versetzt

10,0 ccm Filtrat mit

10,0 „ Phosphorwolframsäurelösung.

Die Drehung ist $= +3{,}6\,\%$.

β) Zur Kontrolle werden

10,0 ccm derselben Milchzuckerlösung mit

30,0 „ H_2O versetzt.

Man findet die Drehung $= +3{,}6\,\%$.

γ) Man versetzt

10,0 ccm ca. $14{,}0\,\%$ige Milchzuckerlösung mit

5,0 „ C-Aminosäurenlösung und fällt mit

5,0 „ Mercuriacetatlösung.

Vom Filtrat werden

10,0 ccm mit

10,0 „ Phosphorwolframsäurelösung behandelt.

Die Drehung beträgt dann $+3{,}4\,\%$.

δ) 10 ccm der gleichen Lactoselösung wurden zur Kontrolle mit Wasser auf 40 ccm aufgefüllt.

Drehung $= +3{,}4\,\%$.

E. Anwendung auf Rohrzucker.

α) Man versetzt

10,0 ccm $5{,}0\,\%$ige Rohrzuckerlösung mit

5,0 „ A-Aminosäurenlösung und mit

20,0 „ Mercuriacetatlösung.

---

[1]) Konzentriertes Reagens.

Man filtriert und fällt

15,0 ccm Filtrat mit

5,0 „ Phosphorwolframsäurelösung.

Im Filtrat beträgt die Drehung $+1{,}35\,^{0}/_{0}$.

β) Zur Kontrolle versetzt man

10,0 ccm der gleichen Rohrzuckerlösung mit

25,0 „ H_2O.

Von der Mischung entnimmt man

15,0 ccm und verdünnt mit

5,0 „ H_2O.

Drehung $= +1{,}35\,^{0}/_{0}$.

γ) Man mischt

10,0 ccm $5\,^{0}/_{0}$ige Saccharoselösung,

5,0 „ C-Aminosäurenlösung und

30,0 „ Mercuriacetatlösung.

Zu

10,0 ccm Filtrat setzt man

7,0 „ Phosphorwolframsäurelösung.

Das klare Filtrat zeigt die Drehung $+0{,}85\,^{0}/_{0}$.

δ) Versetzt man

10,0 ccm derselben Saccharoselösung zunächst mit

35,0 „ H_2O

und

10,0 „ der Mischung mit

7,0 „ H_2O,

so beobachtet man in der Kontrolle eine Drehung $= +0{,}8\,^{0}/_{0}$.

ε) Man mischt

20,0 ccm etwa $5\,^{0}/_{0}$ige Rohrzuckerlösung mit

5,0 „ C-Aminosäurenlösung und mit

30,0 „ Mercuriacetatlösung.

10,0 „ klaren Filtrats fällt man mit

7,0 „ Phosphorwolframsäurelösung.

Nach erneuter Filtration ist die Drehung $= +1{,}4\,^{0}/_{0}$.

ζ) Zur Kontrolle wurden

20,0 ccm der gleichen Rohrzuckerlösung erst mit

35,0 „ H_2O versetzt und von dieser Mischung

abermals
10,0 ccm mit
7,0 „ H_2O verdünnt.
Als Drehung ergab sich $+1{,}4°/_0$.

η) Man mischt
10,0 ccm $5{,}5°/_0$ige Saccharoselösung,
10,0 „ C-Aminosäurenlösung und
50,0 „ Mercuriacetatlösung.
Nach Filtration fällt man
10,0 ccm Filtrat mit
7,0 „ Phosphorwolframsäurelösung.
Die Drehung beträgt $+0{,}6°/_0$.
ϑ) Bei der Kontrollprobe werden
10,0 ccm Rohrzuckerlösung mit
60,0 „ H_2O verdünnt.
Dann von diesem Gemisch
10,0 ccm mit
7,0 „ H_2O versetzt.
Man findet dann die Drehung entsprechend $+0{,}6°/_0$.

ι) Man löst 2,1 g Rohrzucker in
5,0 ccm D-Aminosäurenlösung und fällt mit
20,0 „ Mercuriacetatlösung.
Zu
15,0 „ Filtrat gibt man dann
10,0 „ Phosphorwolframsäurelösung.
Nach Filtration findet man die Drehung $= +6{,}3°/_0$.
$\varkappa$) Zur Kontrolle wurden 2,1 g Rohrzucker in
25,0 ccm H_2O gelöst und von diesem Gemische
15,0 „ mit
10,0 „ H_2O verdünnt.
Es ergab sich alsdann eine Drehung $= +6{,}3°/_0$.

F. Anwendung auf Raffinose.

α) Man mischt
5,0 ccm $9{,}5°/_0$ige Raffinoselösung,
5,0 „ C-Aminosäurenlösung und
30,0 „ Mercuriacetatlösung.

Nach Filtration fällt man
10,0 ccm Filtrat mit
7,0 „ Phosphorwolframsäurelösung.
Die Drehung betrug dann $= +1{,}4°/_0$.

β) Für die Kontrolle wurden
5,0 ccm der gleichen Raffinoselösung mit
35,0 „ H_2O
gemischt und von dieser Lösung
10,0 ccm abermals mit
7,0 „ H_2O verdünnt.
Die resultierende Flüssigkeit drehte entsprechend $+1{,}4°/_0$.

γ) Man versetzt
5,0 ccm ca. $11{,}0°/_0$ige Raffinoselösung mit
5,0 „ D-Aminosäurenlösung und
20,0 „ Mercuriacetatlösung.
Dann fällt man
15,0 ccm klaren Filtrats mit
10,0 „ Phosphorwolframsäurelösung.
Nach abermaliger Filtration ist die Drehung $= +2{,}2°/_0$.

δ) Die Kontrolle wurde in der Weise ausgeführt, daß
5,0 ccm derselben Raffinoselösung mit Wasser auf
50,0 „ aufgefüllt wurden.
Dann war die Drehung $= +2{,}15°/_0$.

Es mag erwähnt werden, daß auch in den so behandelten, d. h. Mercuriacetat + Phosphorwolframsäure enthaltenden Lösungen von Rohrzucker oder Raffinose bei Zimmertemperatur innerhalb 1, bzw. $^1/_2$ Stunde keine Hydrolyse eintritt.

G. Anwendung auf d-Glucosamin.

Besonderes Interesse beanspruchte die Prüfung, ob das neue Verfahren auch bei Anwesenheit des in der Natur weit verbreiteten und häufig im Gemisch mit Aminosäuren vorkommenden Aminozuckers d-Glucosamin ausführbar sei.

α) Man mischt
5,0 ccm $4{,}6°/_0$ige Glucosaminchlorhydratlösung,
5,0 „ A-Aminosäurenlösung und
20,0 „ Mercuriacetatlösung.

Dann fällt man

15,0 ccm klares Filtrat mit

5,0 „ Phosphorwolframsäurelösung.

Die Drehung ist $= +0{,}8\,\%$.

β) Zur Kontrolle werden

5,0 ccm derselben HCl-Glucosaminlösung mit

35,0 „ H_2O vermischt.

Die Drehung beträgt dann $+0{,}8\,\%$.

γ) Man setzt zu

5,0 ccm 4,6%iger Glucosaminchlorhydratlösung

5,0 „ C-Aminosäurenlösung und

30,0 „ Mercuriacetatlösung.

Von dem Filtrat mischt man

10,0 ccm mit

7,0 „ Phosphorwolframsäurelösung

und findet nach nochmaliger Filtration eine Drehung $= +0{,}45\,\%$.

δ) Die Kontrolle wird in der Weise vorgenommen, daß

5,0 ccm derselben HCl-Glucosaminlösung mit

35,0 „ H_2O

versetzt werden; von dieser Mischung entnimmt man

10,0 ccm und gibt

7,0 „ H_2O hinzu.

Als Drehung findet man $+0{,}5\,\%$.

ε) Man mischt

5,0 ccm 10%ige Glucosaminchlorhydratlösung mit

5,0 „ D-Aminosäurenlösung und

20,0 „ Mercuriacetatlösung.

Vom klaren Filtrat fällt man

15,0 ccm mit

5,0 „ Phosphorwolframsäurelösung.

Die Drehung ist $= +1{,}7\,\%$.

ζ) Zwecks Kontrolle werden

5,0 ccm derselben Glucosaminchlorhydratlösung mit Wasser auf

40,0 „ aufgefüllt.

Man findet dann die Drehung entsprechend $+1{,}75\,\%$.

Diese Daten zeigen, daß man sich der neuen Methode ebenfalls zur Bestimmung des d-Glucosamins vorteilhaft bedienen kann; die Abweichungen liegen auch hier innerhalb der Grenzen, die durch die Ablesung in Meßzylindern und dann im Polarisationsapparat gezogen sind[1]).

Wir hoffen, daß diese Art der Glucosaminermittlung einen methodischen Gewinn bedeutet und gestatten wird, die widerspruchsvollen Angaben zu klären, die gerade über die Höhe des Glucosaminanteils in bestimmten Proteinen vorliegen. (Für diesen Zweck und für die Bestimmung von Zucker in Glucoproteinen überhaupt möchten wir uns die Nutzanwendung unseres Verfahrens vorbehalten.)

Schließlich wollen wir noch bemerken, daß das Verfahren in gleicher Weise bei l-Xylose, d-Galaktose und d-Fructose geprüft ist und sich als brauchbar erwiesen hat; es kann deshalb kaum ein Zweifel bestehen, daß es auf alle drehenden Zuckerarten angewendet werden kann, ebenso auf die Alkohole der Kohlenhydratreihe.

Gruppe 4.

Außer Aminosäuren kommen in Naturstoffen in wasserlöslichem Zustande noch folgende schwer entfernbare, optischaktive Körper vor: Amide der Aminosäuren, Nucleinsäuren und Phosphatide, letztere z. T. in lockerer Verbindung gerade mit Zuckerarten, Albumosen und Nucleoproteide.

Auch diese Substanzen werden bei dem neuen Verfahren entfernt, ohne daß Verluste an Kohlenhydraten eintreten.

Es erübrigt sich, die einzelnen Daten aufzuführen. Die Versuche sind durchgeführt für:

Asparagin, Glutamin, Hefenucleinsäure, Milznucleinsäure, Lecithin, Albumosen aus Fibrin, Keratin und aus Fleisch sowie für Pankreasnucleoproteid.

Bedingung ist auch hier, daß vor der Fällung genau neutrale Reaktion (ev. durch Natriumcarbonatzusatz) herzustellen ist. Dabei fallen nun viele der genannten Körper, namentlich die Amide, schon fast vollständig durch Zusatz von Mercuriacetat allein.

[1]) Bekanntlich ist das Drehungsvermögen verschiedener Glucosaminsalze nicht gleich; nach obigen Daten genügt jedoch die Gegenwart der Cl-Ionen, um in Anwesenheit der schwachen Säuren Essigsäure und Phosphorwolframsäure die Drehung des reinen Glucosaminchlorhydrates herzustellen.

In Pflanzensäften kommen noch andere durch Phosphorwolframsäure fällbare Bestandteile vor. Die Niederschläge derselben sind manchmal nicht so leicht und klar abzufiltrieren, wie die der Aminosäurengemische. Durch Zugabe von wenig kolloidalem Ferrihydroxyd oder von Tonerdebrei, Magnesia oder Bleiacetat kann man auch hier blanke Filtrate erzielen und gleichzeitig eine hydrolysierende Wirkung der Phosphorwolframsäure [z. B. durch MgO oder $Pb(CO_2CH_3)_2$] beseitigen.

Lecithinglucose[1]) wird durch Mercuriacetat plus Phosphorwolframsäure völlig zerlegt derart, daß im Filtrat quantitativ das Drehungsvermögen des Traubenzuckeranteils vorhanden ist.

Gruppe 5.

Die erste Nutzanwendung haben wir auf die Untersuchung von Melassen[2]) zu machen gesucht.

Wir führen die Resultate an, die man bei der üblichen Klärung mit Bleiessig und nach unserer neuen Methode erhält[3]).

Da es uns nur auf einen Vergleich der polarimetrischen Effekte ankommt, führen wir lediglich die Zahlen für die direkte Polarisation an, ohne auf die gesonderte Bestimmung von Rohrzucker und Raffinose einzugehen.

Melasse 1.

α) 6,5 g Melasse, die genau neutral reagierten, wurden in Wasser gelöst, mit 5,0 ccm Mercuriacetat (konz.) versetzt und auf 40,0 ccm aufgefüllt. Zu 10,0 ccm klaren Filtrates wurden 5,0 ccm Phosphorwolframsäurelösung gesetzt.

Die filtrierte Flüssigkeit war wasserklar und zeigte eine Drehung entsprechend $+9{,}6\,\%$ Traubenzucker.

β) 6,5 g derselben Melasse wurden unter Zusatz von 5,0 ccm Bleiessig auf 40,0 ccm gebracht. 10,0 ccm Filtrat wurden mit 5,0 ccm H_2O verdünnt und zeigten eine Drehung $= +9{,}2\,\%$.

Melasse 2.

α) 6,5 g Melasse wurden mit Wasser unter Zugabe von 10 ccm Mercuriacetatlösung auf 30,0 ccm aufgefüllt. 15,0 ccm

[1]) Dargestellt aus bekannten Mengen Traubenzucker.

[2]) Wir verdanken dieselben größtenteils dem Entgegenkommen des Instituts für Zuckerindustrie in Berlin.

[3]) Genauere Angaben hierüber werden wir in der Zeitschrift des Vereins der deutschen Zuckerindustrie machen.

klaren Filtrates wurden mit 10,0 ccm verd. Phosphorwolframsäurelösung gefällt. Die farblose, spiegelklare Flüssigkeit dreht $= +9{,}0\,\%$.

β) 6,5 g der gleichen Melasse wurden in Wasser gelöst; unter Zugabe von 5,0 ccm Bleiessig wurde das Volumen auf 50,0 ccm gebracht. Die filtrierte Flüssigkeit war noch bräunlich, doch wurde die Drehung mit Sicherheit $= +8{,}7\,\%$ bestimmt.

Melasse 3 (Raffineriemelasse).

α) 6,5 g Raffineriemelasse wurden in Wasser unter Zugabe von 10,0 ccm Mercuriacetatlösung zu 30,0 ccm gelöst. Nach Filtration wurden zu 15,0 ccm 10,0 ccm verd. Phosphorwolframsäurelösung zugefügt. Es resultierte eine völlig farblose Lösung, die $= +8{,}4\,\%$ polarisierte.

β) 6,5 g derselben Raffineriemelasse wurden unter Zusatz von 5,0 ccm Bleiessig auf dasselbe Volumen, d. h. auf 50,0 ccm, gebracht. Drehung $= +8{,}4\,\%$.

Melasse 4 (Restmelasse).

α) 6,5 g Restmelasse wurden in Wasser gelöst, mit 10,0 ccm Mercuriacetatlösung versetzt und mit Wasser auf 30,0 ccm aufgefüllt. Dann wurde filtriert und zu 15,0 ccm Filtrat 10,0 ccm verd. Phosphorwolframsäurelösung gegeben. Es resultierte eine wasserhelle Flüssigkeit vom Drehungsvermögen $= +10{,}6\,\%$.

β) Zum Vergleich wurden 6,5 g derselben Restmelasse unter Zusatz von 10,0 ccm Bleiessig mit Wasser auf 50,0 ccm gebracht. Die Drehung war $= +10{,}4\,\%$.

Wie ersichtlich, haben wir mit dem neuen Verfahren in mehreren Fällen bei der Untersuchung der Melassen einen etwas höheren Drehungswert als nach der Bleiessigmethode gefunden. Nach den im voraufgehenden ausführlich mitgeteilten Kontrollen an künstlichen Gemischen von Zuckern und Aminosäurengemengen kann es nicht zweifelhaft sein, daß unsere höheren Zuckerwerte in Melassen auf einer besseren Reinigung der Lösungen, d. h. auf einer Beseitigung lävogyrer[1]) Nichtzuckerstoffe, beruhen.

---

[1]) Bei Beurteilung der Differenzen ist auch in Betracht zu ziehen, daß unter dem Einflusse von Bleiessig die Linksdrehung der N-haltigen Nichtzuckerstoffe noch zunehmen kann (vgl. S. 143).

Angesichts der Wichtigkeit, den dieser Befund erlangen könnte, haben wir nicht unterlassen, unser Ergebnis noch auf die verschiedensten Weisen zu kontrollieren.

1. Es wäre möglich gewesen, daß die nach der Bleiessigmethode behandelten Melasselösungen einen geringeren Zuckergehalt infolge fehlerhafter Mitausfällung von Zucker durch das Bleisubacetat aufgewiesen hätten. Die Zerlegung und sorgfältige Untersuchung der Bleiniederschläge ergab jedoch, daß sie keinen Zucker einschlossen.

2. Ein weiteres Bedenken, das von vornherein allerdings wenig berechtigt schien, bestand darin, daß die durch Mercuriacetat und Phosphorwolframsäure erzeugten Niederschläge massiger als die Bleifällungen seien, einen größeren Raum einnähmen und so bei Auffüllung zu einem bestimmten Volumen weniger Flüssigkeit erforderten, kurz eine Konzentration der gelösten Substanz zuwege brächten.

Die Prüfung erfolgte in der Weise, daß in einem fein geteilten Eudiometerrohre eine Lösung von 6,5 g Melasse in Wasser zu 20,0 ccm hergestellt wurde. Dann wurden aus Normalpipetten erst 25,0 ccm Wasser und dann 5,0 ccm Bleiessig zugegeben. Nach sorgfältiger Durchmischung und nach Aufsteigen der feinen Luftbläschen betrug das Volumen ganz genau 50,0 ccm.

Der völlig gleiche Versuch wurde mit abermals 6,5 g derselben Melasse angestellt. Sie wurden im Eudiometerrohr zu genau 20,0 ccm mit Wasser gelöst. Aus Normalpipetten wurden alsdann 10,0 ccm Mercuriacetatlösung und 20,0 ccm Phosphorwolframsäurelösung zugegeben. Nach Durchmischung und Entweichen der Luftbläschen betrug das Volumen genau 50,05 ccm. Die Differenz beläuft sich also auf 0,1 Volumprozent, d. h. ist ohne den geringsten Einfluß auf das Ergebnis!

3. Schließlich ließ sich der direkte Beweis führen, daß die höheren Werte für dextrogyren Zucker wirklich durch Entfernung linksdrehender Nichtzuckerstoffe aus der Melasselösung mittels der beiden Reagenzien zu erklären sind. Denn sowohl die Zerlegung der Mercuriacetatfällung durch Schwefelwasserstoff wie die des Phosphorwolframsäureniederschlags durch Barytwasser usw. lieferte zuckerfreie, linksdrehende Lösungen, die u. a. durch das charakteristische Lösungsvermögen für Kupfercarbonat einen Gehalt an Aminosäuren zu erkennen gaben.

An der Überlegenheit unseres neuen Verfahrens zur Bestimmung von Zuckerarten in Naturstoffen bei Gegenwart optisch-aktiver N-haltiger Extraktivstoffe kann demnach kein Zweifel bestehen. Diesem Resultate gegenüber können die etwas höheren Aufwendungen für die Reagenzien nicht ins Gewicht fallen. Abgesehen davon, daß man das Quecksilber bei Massenbestimmungen aus den Mercuriacetatniederschlägen wiedergewinnen kann, teilen wir im Anhange die Vorschrift zur Darstellung einer für unsere Zwecke brauchbaren Phosphorwolframsäurelösung mit, die auch dieses Reagens wohlfeil macht.

Anhang.

Zu einer

für die Fällungsreaktionen geeigneten Phosphorwolframsäure

gelangt man, wenn man zu einer Lösung von Phosphorsäure in Natriumwolframat die entsprechende Menge Schwefelsäure setzt. Die Reagenzien werden in äquivalenten Mengenverhältnissen angewendet:

$$H_3PO_4 + 12(Na_2WoO_4 + 2H_2O) + 12H_2SO_4.$$

In einer Porzellanschale werden 200 g reines krystallisiertes Natriumwolframat in heißem Wasser gelöst und dazu 5 g feste Phosphorsäure unter Umrühren getan. Sobald eine klare Flüssigkeit entstanden ist, mischt man diese unter Kühlung mit 58 g konzentrierter und zuvor mit 60 ccm H_2O verdünnter Schwefelsäure und engt auf dem Wasserbade auf 290 ccm ein. Nach dem Erkalten und noch reichlicher beim Stehen im Eisschrank fällt Natriumsulfat aus, von dem man abgießt. Die Phosphorwolframsäurelösung wird aufs doppelte verdünnt und ist sofort gebrauchsfähig, sie muß völlig farblos oder höchstens ganz schwach gelbstichig sein. Sie ist in brauner Flasche möglichst unter Lichtabschluß aufzubewahren. Es ist nicht empfehlenswert, große Quantitäten auf einmal zu bereiten.

Bei der Darstellung ist nur ein Punkt zu beachten: die völlige Fernhaltung von organischer Substanz. In deren Gegenwart wird nämlich die Wolframsäure bei Eindampfen ihrer heißen Lösung leicht teilweise zu grünblauem Wolframpentoxyd reduziert. Man enge daher unter einem Schutztrichter ein und reinige zuvor das Natriumwolframat nach Bedarf durch Umkrystallisieren.

Über zuckerfreie Hefegärungen. VI.

Von

C. Neuberg und L. Karczag.

(Aus der chemischen Abteilung des Tierphysiologischen Instituts der Kgl. Landwirtschaftlichen Hochschule in Berlin.)

Die chemischen Vorgänge, die sich bei den „zuckerfreien Hefegärungen" abspielen, haben wir bisher bei zwei Ketosäuren, bei Brenztraubensäure und bei Oxalessigsäure, völlig aufklären können. Unter dem Einfluß eines neu aufgefundenen Enzyms, der Hefencarboxylase, liefern beide Acetaldehyd und Kohlendioxyd:

$$\text{I.} \qquad CH_3.CO.COOH = CO_2 + CH_3.COH,$$

$$\text{II.} \qquad COOH.CH_2.CO.COOH = 2\,CO_2 + CH_3.COH.$$

Dieses Verhalten hat uns veranlaßt, zunächst weitere Ketosäuren auf ihre Angreifbarkeit durch Hefen zu prüfen. Denn diese Substanzen bieten relativ günstige Bedingungen, das neben CO_2 entstehende Produkt zu fassen.

Wir haben bisher folgende Säuren geprüft:

Acetondicarbonsäure $COOH - CH_2 - CO - CH_2 - COOH$

Chelidonsäure[1]) $CO\begin{<}{CH=C-COOH}{CH=C-COOH}\!\!>O$

---

[1]) Dieselbe ist das Anhydrid der Acetondioxalsäure:

$$CO\begin{<}{CH_2-CO-COOH}{CH_2-CO-COOH} \longrightarrow CO\begin{<}{CH=C(OH)-COOH}{CH=C(OH)-COOH} \longrightarrow$$

$$CO\begin{<}{CH=C-COOH}{CH=C-COOH}\!\!>O$$

Dioxoweinsäure $COOH - CO - CO - COOH$
Benzoylessigsäure $C_6H_5 - CO - CH_2 - COOH$
Phenylbrenztraubensäure $C_6H_5 - CH_2 - CO - COOH$
p-Oxyphenylbrenztraubensäure $OH.C_6H_4.CH_2.CO.COOH$
Phenylglyoxalsäure $C_6H_5 - CO - COOH$.

Ferner haben wir die

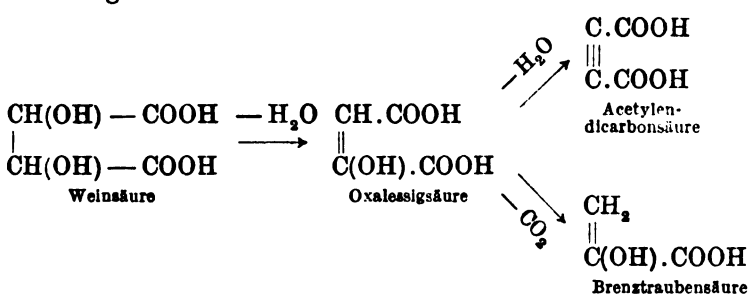
Acetylendicarbonsäure $COOH - C \equiv C - COOH$

untersucht, da diese Substanz als das Produkt einer Wasserentziehung aus Oxalessigsäure[1]) aufgefaßt werden kann.

Ein völlig negatives Ergebnis lieferten die Vergärungsversuche mit Benzoylessigsäure, ein zweifelhaftes die mit Acetylendicarbonsäure; alle anderen Säuren gaben ein deutlich positives Resultat. Alle Versuche sind in der von uns mehrfach beschriebenen Art ausgeführt, indem 1 bis 2%ige Lösungen der Säure oder ihres Kaliumsalzes mit den Hefen in Berührung gebracht wurden.

Sämtliche Säuren stehen in naher Beziehung zu wichtigen Naturstoffen, so die Acetondicarbonsäure zur Citronensäure, die Dioxoweinsäure zur Weinsäure, die Phenyl- und p-Oxyphenylbrenztraubensäure zum Phenylalanin und Tyrosin, die Chelidonsäure schließlich kommt selbst im Pflanzenreiche, in Chelidonium majus und anderen Gewächsen, vor.

Die Ergebnisse mit der Acetylendicarbonsäure sind, wie gesagt, zweifelhaft. Sollten sie sich sicher stellen lassen, so hätte man hinsichtlich der Angreifbarkeit durch Hefe folgende Beziehung:



[1]) $COOH.CH_2.CO.COOH - H_2O = COOH.C:C.COOH$. Den umgekehrten Vorgang, die Bildung von Oxalessigsäure aus Acetylendicarbonsäure, hat vor 22 Jahren E. Buchner (Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 22, 2929, 1889) bei dem Methylester beobachtet.

Auf einen wichtigen Punkt möchten wir schon jetzt die Aufmerksamkeit lenken, auf die Tatsache, daß gerade die α-Ketosäuren es sind, die mit besonderer Leichtigkeit der zuckerfreien Gärung unterliegen. Bei Gegenwart von Zucker werden diese Ketosäuren in ganz anderer Richtung umgewandelt, wie aus den wichtigen Versuchen von Neubauer und Fromherz[1]) hervorgeht; sie liefern bei Anwesenheit von Rohrzucker zum Teil dieselben Verbindungen, die zuerst F. Ehrlich in seinen bekannten Arbeiten über die Vergärung der entsprechenden Aminosäuren in Gegenwart von Zucker aufgefunden hat. Für diese Umwandlungen der Aminosäuren ist, wie Ehrlich[2]) mehrfach betont hat, die durch den Zerfall des Zuckers freiwerdende Energie Vorbedingung; auch Neubauers und Fromherz' Versuche sind sämtlich in Gegenwart ganz bedeutender Quantitäten von Zucker ausgeführt. Wir wollen nicht unterlassen, auf den prinzipiellen Unterschied hinzuweisen, der demnach — ganz abgesehen von den verschiedenen Reaktionsprodukten — auch in energetischer Beziehung zwischen den in Zuckeranwesenheit erzielten Ergebnissen der genannten Autoren und unseren Beobachtungen über die zuckerfreien Gärungen stickstofffreier Substanzen besteht.

Wenn wirklich die α-Ketosäuren, wie Neubauer annimmt, stets das erste Umwandlungsprodukt der Aminosäuren darstellen, so zeigen unsere Versuche, daß unter der Einwirkung der Carboxylase jedenfalls ein Abbau der α-Ketosäuren stattfinden kann, der ganz anders als in Gegenwart von Zucker verläuft und zu Produkten (Aldehyden) führt, die in hervorragender Weise zu Synthesen, Kondensationen und zum Abbau befähigt sind. Soweit bisher ersichtlich, scheinen die jetzt untersuchten Ketosäuren nämlich ebenfalls unter CO_2-Abspaltung Aldehyde zu liefern, wie wir es für die Brenztraubensäure und Oxalessigsäure festgestellt haben. Die entstehenden z. T. recht komplizierten Umwandlungsprodukte sind nicht immer leicht zu isolieren, so daß wir im folgenden vorerst die Versuche beschreiben, die lediglich die Vergärbarkeit dartun.

---

[1]) O. Neubauer und K. Fromherz, Zeitschr. f. physiol. Chem. 70, 326, 1911.

[2]) F. Ehrlich, Landw. Jahrbücher 1909, Ergänzungsb. V, S. 316 bis 317; Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 44, 146, 1911.

I. Acetondicarbonsäure.

(β-Ketoglutarsäure.)

$COOH—CH_2—CO—CH_2—COOH$.

Die Versuche wurden mit einer 1%igen Lösung bei Zimmertemperatur vorgenommen.

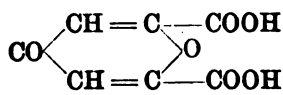
	Kubikzentimeter CO_2 nach 6 Std.	20 Std.
Acetondicarbonsäurelösung mit Hefe D	5	10
„ „ „ D + Chloroform	3	11
„ „ „ D + Toluol . .	2	12
„ „ zuvor gekocht. Hefe D	2	8
Hefe D für sich . .	Spur	0,5
„ „ „ K	6	10
„ „ „ K + Chloroform	2	7
„ „ „ K + Toluol . .	3	6
„ „ zuvor gekocht. Hefe K	Spur	5
Hefe K für sich . .	„	Spur
„ allein, ohne Hefe . . .	1	6

Bekanntlich zerfällt die Acetondicarbonsäure beim Sieden ihrer wässerigen Lösung langsam in CO_2 und Aceton. Die gleiche Spaltung tritt, wie ersichtlich, auch durch längeres Stehen bei Zimmertemperatur ein, wie obige Zahlen lehren. Allein in Berührung mit Hefe ist offenbar der Zerfall ein viel schnellerer. Wie man sieht, ist innerhalb der ersten 6 Stunden, wo Acetondicarbonsäure für sich nur ganz wenig Kohlendioxyd entwickelt, bei Gegenwart von Hefe K und D bis zur 5 bzw. 6fachen Menge CO_2 entstanden.

Die Verhältnisse liegen anscheinend ähnlich wie bei der verwandten Acetessigsäure; die Salze derselben werden nach den von L. Pollak[1]) unter Hofmeisters Leitung ausgeführten Versuchen durch Berührung mit tierischen Organen schneller als für sich zerlegt.

II. Chelidonsäure.

(Acetondioxalsäureanhydrid.)



Zur Verwendung kommen 1%ige Lösungen der freien Säure und ihres Dikaliumsalzes; Temperatur 28°.

[1]) L. Pollak, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 10, 232, 1907.

	Kubikzentimeter CO_2 nach		
	18 Std.	30 Std.	48 Std.
Chelidonsäurelösung mit Hefe D	5	6	8
„ „ „ K	0	0	0
„ allein	0	0	0
Chelidonsaures Kalium mit Hefe D	1,5	2,5	6
„ „ „ „ K	0	0,5	1,5
„ „ allein	0	0	0
Hefe D allein	0	0	Spur
„ K „	Spur	Spur	0,5

III. Dioxoweinsäure.

$$COOH—CO—CO—COOH$$

bzw. $COOH—C(OH)_2—C(OH)_2—COOH$.

Wegen der Zersetzlichkeit wurden die Versuche bei Zimmertemperatur vorgenommen. Das Natriumsalz, das bekanntlich schwer löslich ist, kam als 1%ige Suspension zur Anwendung, die freie Säure war nach W. Lash Miller[1]) hergestellt.

	Kubikzentimeter CO_2 nach		
	$3^1/_2$ Std.	5 Std.	20 Std.
Dioxoweinsäurelösung mit Hefe D	5,5	6	7
„ „ „ K	4	4	5
„ allein	0,5	0,5	1
Dioxoweinsaures Natron mit Hefe D	3,5	3,5	5
„ „ „ „ K	3,0	3,0	4,5
„ „ allein	0	0	0
Hefe D allein	Spur	Spur	Spur
„ K „	„	„	„

IV. Phenylbrenztraubensäure.

$$C_6H_5—CH_2—CO—COOH.$$

A.

Temperatur 28°.	Kubikzentimeter CO_2 nach		
	1 Tag	2 Tagen	4 Tagen
Phenylbrenztraubensäure mit gewöhnl. Preßhefe	1,5	2	3
„ „ Hefanol	0	0	0
„ allein	0	0	0
Phenylbrenztraubensaur. Kalium m. gew. Preßhefe	5	6	10
„ „ „ Hefanol . .	7	7	9
„ „ allein	0	0	0
Preßhefe „	Spur	Spur	0,5
Hefanol „	0,5	0,5	2

[1]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 22, 2015, 1889.

B.

Temperatur 28°.	Kubikzentimeter CO_2 nach		
	$3^1/_2$ Std.	5 Std.	20 Std.
Phenylbrenztraubensäure mit Hefe D	4	4,5	5
„ „ „ K	2	2,5	2,5
„ allein	0	0	0
Phenylbrenztraubensaures Kalium mit Hefe D .	4,5	5,0	7,0
„ „ „ „ K .	4,0	4,5	5,0
„ „ allein . . .	0	0	0
Hefe D „ . . .	1,5	1,5	2
„ K „ . . .	1,5	1,5	1,5

V. p-Oxyphenylbrenztraubensäure.

$HO.C_6H_4—CH_2—CO—COOH.$

Temperatur 28°.	Kubikzentimeter CO_2 nach		
	5 Std.	24 Std.	48 Std.
1%ige p-Oxyphenylbrenztraubensäure m. Preßhefe	3	5	6
1%ige „ allein . .	0	0	0
1%iges p-oxyphenylbrenztraubensaures Kalium mit Preßhefe	0	0,5	2,0
1%iges p-oxyphenylbrenztraubensaures Kalium allein	0	0	0
Preßhefe allein	0	Spur	0,5

VI. Phenylglyoxalsäure.

$C_6H_5—CO—COOH.$

A.

Temperatur 28°.	Kubikzentimeter CO_2 nach		
	1 Tag	2 Tagen	4 Tagen
Phenylglyoxalsäure mit gew. Preßhefe	0	0	0
„ „ Zymin	0	0	0
„ allein	0	0	0
Phenylglyoxalsaures Kalium mit gew. Preßhefe	7	7	9
„ „ „ Zymin . . .	3	3	3
„ „ allein	0	0	0
Preßhefe „	Spur	Spur	0,5
Zymin „	0,5	0,5	1,5

B.

Temperatur 28°.	Kubikzentimeter CO_2 nach		
	$3^1/_2$ Std.	5 Std.	20 Std.
Phenylglyoxalsäure mit Hefe D	0	0	0
„ „ „ K	0	0	0
„ allein	0	0	0
Phenylglyoxalsaures Kalium mit Hefe D . . .	4,0	5	5
„ „ „ „ K . . .	4,5	4,5	5,5
„ „ allein	0	0	0
Hefe D allein	1,5	1,5	2
„ K „	1,5	1,5	1,5

VII. Acetylendicarbonsäure.

$$COOH — C \equiv C — COOH.$$

Temperatur 28°.	Kubikzentimeter CO_2 nach		
	20 Std.	30 Std.	48 Std.
1%iges acetylendicarbons. Kalium mit Hefe D .	2,5	3,5	4,0
„ „ „ „ K .	0,5	0,7	1,0
„ „ allein	0	0	0
Hefe D „	0	0	Spur
„ K „	Spur	Spur	„

Wie erwähnt, erhält man bei der Benzoylessigsäure ein völlig negatives Ergebnis. Eine schwache Spaltung durch Hefe unter CO_2-Entwicklung beobachteten wir auch bei einigen Estern, so bei dem Acetessigsäureäthylester und dem oxalessigsauren Äthyl.

Ganz ähnlich wie bei der Vergärung von brenztraubensaurem Kalium[1]) fanden wir im Gärgut der homologen phenyl- und oxyphenylbrenztraubensauren Alkalien sowie des phenylglyoxalsauren Kaliums in mehreren Fällen deutlich alkalische Reaktion.

[1]) C. Neuberg und L. Karczag, diese Zeitschr. 36, 69, 1911.

Berichtigung.

Band 36, S. 489, Zeile 10 von unten muß es heißen Quantität statt Qualität.

Methodisches über Blutgerinnung, nebst Bemerkungen über das Wesen des Gerinnungsvorganges.

Von

Heinrich Stromberg (St. Petersburg).

(Aus der medizinischen Poliklinik der Universität Freiburg i. Br.)

(*Eingegangen am 10. Oktober 1911.*)

Mit 5 Figuren im Text.

Obgleich seit Veröffentlichung der grundlegenden Arbeit Alexander Schmidts: „Über den Faserstoff und die Ursache seiner Gerinnung" im Jahre 1861 ein halbes Jahrhundert verflossen ist, kann die Lehre von der Blutgerinnung heutzutage weniger denn je als abgeschlossen betrachtet werden. Trotz eines unermeßlichen Forschungsmaterials, das die Frage scheinbar von allen Seiten angreift und beleuchtet, trotz einer immer komplizierteren Ausgestaltung der Gerinnungstheorien, bleibt der Kernpunkt des Problems, die Frage nach dem eigentlichen Wesen des Gerinnungsvorganges, nach der Natur dieser Reaktion unentschieden. Die von Alex. Schmidt stammende Auffassung der Gerinnung als eines fermentativen Vorganges kann wohl als Grundstein betrachtet werden, auf dem die moderne Gerinnungslehre sich ausgebaut und entfaltet hat. Aber das alte Fundament scheint nicht mehr auszureichen, die ganze Fülle neuer Tatsachen aufzunehmen, der alte Rahmen wird zu eng, die mannigfaltigen Beobachtungen in ihrer Gesamtheit zu umfassen. Neue Bestrebungen machen sich daher geltend, die sich vom fermentativen Standpunkt abkehren und nach anderen Erklärungsmöglichkeiten fahnden. In neuerer Zeit wird z. B. von Nolf, Howell, Rettger die Anschauung vertreten, daß es sich bei der Gerinnung nicht um eine Fermentwirkung, sondern um eine gegenseitige Fällung von

Kolloiden handelt. Solange ein erweiterter Gesichtspunkt zur Lösung mannigfacher Widersprüche und zur Schaffung einer einheitlichen Gerinnungslehre fehlt, hat man sich gegenwärtig damit zu begnügen, in weiteren Tatsachen einen Fingerzeig für den möglichen Charakter des Gerinnungsvorganges zu suchen.

Vorliegende Arbeit liefert einen Beitrag zu dieser Frage. Die hier mitgeteilten Beobachtungen sprechen für quantitative Verhältnisse zwischen den Gerinnungsfaktoren und entziehen mithin der fermentativen Auffassung des Gerinnungsvorganges eine weitere Stütze. Diese Beobachtungen wurden im Laufe von methodologischen Untersuchungen gemacht, die einen Vergleich des von Wohlgemuth veröffentlichten Verfahrens zur quantitativen Bestimmung des Fibrinfermentes mit den Ergebnissen der Zeitmethode anstrebten. Da letztere Untersuchungen den Ausgangspunkt der weiteren Forschung bildeten und auch in technischer Hinsicht mit ihr im Zusammenhang stehen, außerdem aber an und für sich ein Interesse beanspruchen, so sind sie in erster Linie dargestellt, während die prinzipiellen Fragen im Anschluß daran ihre Besprechung später finden.

I. Teil.

Die quantitative Methode Wohlgemuths verglichen mit der Zeitmethode.

1. Bisherige Untersuchungen.

Die meisten Methoden zur Bestimmung der Gerinnungsfähigkeit des Blutes nehmen als Ausgangspunkt in der Beurteilung die Gerinnungszeit, d. h. den Zeitraum, den eine frisch gewonnene Blutprobe außerhalb der Gefäße bis zum Festwerden braucht. Hierbei wird die stille Voraussetzung gemacht, daß die Bestimmung der Gerinnungszeit in vitro eine Vorstellung von den Vorgängen gibt, die sich beim Verschluß blutender Wunden im Organismus abspielen. Wahrscheinlich liegen die Verhältnisse dort aber nicht so einfach, indem beim Verschluß blutender Gefäße der Agglutination der Blutplättchen und Leukocyten und der dadurch bedingten Pfropfbildung eine vielleicht ebenso bedeutende Rolle zufällt wie der eigentlichen Fibringerinnung. Immerhin beruht das Prinzip

dieser Zeitmethoden auf der tatsächlichen Beobachtung, daß fast alle Individuen, die schwer stillbaren Blutungen unterworfen sind, die Erscheinung einer verminderten Gerinnbarkeit in vitro zeigen [Morawitz[1])[2])]. Dieser Satz hat aber keine umgekehrte Gültigkeit, d. h. eine verzögerte Gerinnung braucht nicht notwendigerweise auf eine starke Neigung zu Blutungen hinzuweisen [Hinman und Sladen[3])]. Die Zeitmethoden besitzen den großen Vorzug, daß hier die entnommene Blutprobe keinerlei vorläufigen Manipulationen unterworfen wird und alle Gerinnungsfaktoren, die im lebenden Organismus auch normalerweise zur Geltung kommen, sich ungestört am Gerinnungsvorgange beteiligen können. Die Bestimmung der Gerinnungszeit gibt also den Gerinnungsverlauf so weit treu wieder, wie es die veränderten, künstlichen Versuchsbedingungen in vitro heutzutage zulassen. Diese Eigenschaft der Zeitmethoden macht sie für viele wissenschaftliche Zwecke, hauptsächlich aber für die Klinik unentbehrlich.

Diesen Zeitmethoden stellt Wohlgemuth[4]) seine quantitative Methode gegenüber, indem er seinen Vorschlag durch folgende Überlegungen begründet: 1. alle Zeitmethoden hätten den Nachteil, daß man mit ihnen nur die Gerinnungszeiten bestimmen könnte und nicht die in gleichen Zeiten umgesetzten Substanzmengen; 2. derartige Methoden wären an sich nicht geeignet, das Wirkungsgesetz eines Fermentes zu ermitteln und 3. gestatteten sie noch viel weniger Rückschlüsse auf die Fermentquantitäten, solange die Gesetzmäßigkeit der Fermentwirkung noch nicht bekannt sei.

Wohlgemuths Bemühungen gingen nun dahin, eine Methode zu schaffen, bei der der Zeitpunkt ein für allemal fixiert bleibt, dagegen die beiden bei der Gerinnung ausschlaggebenden Faktoren, das Fibrinferment und Fibrinogen, quantitativ bestimmt werden.

---

[1]) P. Morawitz, Die Blutgerinnung. Handb. der biochemischen Arbeitsmethoden von Abderhalden V, Berlin-Wien 1911.

[2]) Morawitz und Bierich, Über die Pathogenese der cholämischen Blutungen. Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 56, 115, 1906.

[3]) Hinman and Sladen, Measurement of the coagulation time. Johns Hopkins Hosp. Bull. 18, 1907. Zit. nach Morawitz.

[4]) J. Wohlgemuth, Eine neue Methode zur quantitativen Bestimmung des Fibrinfermentes usw. Diese Zeitschr. 25, 79, 1910.

Da praktisch bei Beurteilung der Gerinnungsfähigkeit des Blutes hauptsächlich das Thrombin[1]) oder dessen Vorstufen, dagegen wohl kaum einmal das Fibrinogen in Frage kommt, außerdem aber das Thrombin seiner ganzen Natur nach ein großes theoretisches Interesse beansprucht, so habe ich mein Hauptaugenmerk auf die Methode der quantitativen Bestimmung gerade des Thrombins gerichtet. Wohlgemuth entnimmt frisches Blut aus der Ader, defibriniert es durch Schlagen mit einem Glasstabe, zentrifugiert es und stellt in dem so erhaltenen Serum die Quantität des Thrombins folgendermaßen fest: eine Reihe von Reagensgläsern wird mit absteigenden Mengen des ganz frisch gewonnenen Serums beschickt, die Volumdifferenzen mit den entsprechenden Quantitäten 1%iger kalkfreier Kochsalzlösung ausgeglichen und nun zu jeder Portion je 2 ccm eines nach Alex. Schmidt hergestellten Magnesiumsulfatplasmas zugefügt. Um jeden schädlichen Einfluß der Wärme auf das Thrombin zu vermeiden, werden die Versuchsreihen für 24 Stunden in den Eisschrank gesetzt. Danach überzeugt man sich — nur durch horizontales Neigen eines jeden Röhrchens, ohne zu schütteln, in welchem Gläschen komplette (der ganze Inhalt erstarrt), in welchem partielle Gerinnung eingetreten ist und endlich welche flüssig geblieben sind. Zur Bestimmung der Thrombinmenge setzt Wohlgemuth diejenige Serummenge als Einheit, die noch imstande ist, ein deutlich erkennbares Gerinnsel hervorzubringen, und nun berechnet er, wieviel „Fibrinfermenteinheiten" (= Ff.) in 1 ccm Serum enthalten sind. Auf diese Weise kann man gleichzeitig ohne Mühe eine Reihe von Sera auf ihren Ff.-Gehalt untersuchen und zahlenmäßig belegen.

In welchen Grenzen soll Wohlgemuths Methode Anwendung finden? Da Wohlgemuth sein Verfahren den Zeitmethoden, die zur Beurteilung der Gerinnungsfähigkeit des Blutes dienen, gegenüberstellt, so können wir annehmen, daß er die Resultate „der quantitativen Bestimmung des Fibrinfermentes" im Blutserum zu den Gerinnungszeiten der frisch gewonnenen Blutproben in Parallele setzt, oder vielmehr den ersteren vor den zweiten den Vorzug gibt. Denn als Hauptnachteil der Zeitmethoden betrachtet Wohlgemuth ja gerade den, daß man mit Hilfe derselben nur die Gerinnungszeiten und nicht die in gleichen Zeiten umgesetzten Substanzmengen bestimmen könne. Wird letzteres durch die quantitative Methode Wohlgemuths erreicht? Ist überhaupt ein

[1]) In Anbetracht dessen, daß die fermentative Natur des Gerinnungsvorganges noch keineswegs entschieden ist, sondern im Gegenteile immer mehr angezweifelt wird, ziehe ich die neutrale Bezeichnung „Trombin" dem allerdings historischen Namen „Fibrinferment" wissentlich vor.

Rückschluß von dem Thrombingehalt im Serum auf die tatsächliche Gerinnungsfähigkeit des Blutes gestattet?

Dieser Punkt ist in der jüngsten Abhandlung über die Blutgerinnung von Morawitz[1]) nachdrücklich hervorgehoben worden. Die quantitativen Thrombinbestimmungen im Blutserum bedeuten keineswegs dasselbe, wie die direkte Bestimmung der Gerinnungszeit; der Thrombingehalt des Serums kann auch keinen brauchbaren Indicator für die während der Gerinnung überhaupt gebildeten Thrombinmengen abgeben. Denn die Gerinnungszeit ist nicht allein von der Menge des Thrombins, sondern auch sehr wesentlich von der Schnelligkeit der Thrombinentwicklung[2]) abhängig; dann aber wird ein großer Teil des bei der Gerinnung gebildeten Thrombins mit den Fibringerinnseln entfernt, eine weitere sehr große Menge geht bald nach vollendeter Gerinnung in die unwirksame Modifikation des Metathrombins über [A. Schmidt[3])]. In Anbetracht dieser komplizierten Verhältnisse erscheint es sehr unwahrscheinlich, daß der Thrombingehalt im Blutserum auch nur als relatives Maß für die Gerinnungsfähigkeit des Blutes in vivo dienen könnte.

Wohlgemuths Methode, die eine quantitative Thrombinbestimmung in defibriniertem Blute unternimmt, gibt also nur den Thrombingehalt im Serum an, sagt aber nichts über die bei der Gerinnung überhaupt gebildeten Thrombinmengen aus, d. h. sie liefert uns an Stelle der Gerinnungszeit kein gleichwertiges Kriterium zur Beurteilung der Gerinnungsfähigkeit des Blutes. Ihr Wirkungskreis als quantitativer Methode bleibt daher nur auf eine Messung des Thrombingehalts in irgendwelchen Lösungen, wie z. B. auch im Serum, beschränkt. Was für Vorzüge bietet

---

[1]) P. Morawitz, Die Blutgerinnung. Handb. der biochemischen Arbeitsmethoden von Abderhalden V, Berlin-Wien 1911.

[2]) Nach Arthus*) steigt die Thrombinproduktion nach Entleerung des Blutes aus den Gefäßen zunächst langsam, kurz vor der Gerinnung aber sehr steil an, um nach vollendeter Koagulation wieder rasch abzufallen.

[3]) A. Schmidt, Zur Blutlehre, Leipzig 1892. Zit. nach Morawitz.

*) M. Arthus, Un réactif quantitatif du Fibrinferment. Journ. de Physiol. et Pathol. 4, 1, 1902 oder Compt. rend. 53, 962, 1901.

die Methode auf diesem Gebiete gegenüber der früher auch hier angewandten Zeitmethode? Diese Frage bildet nun den eigentlichen Gegenstand der weiteren Untersuchungen.

Bei der Zeitmethode wird der Thrombingehalt nach der Zeit bestimmt, die eine fibrinogenhaltige Flüssigkeit bis zur vollendeten Gerinnung braucht; starke Thrombinmengen wirken natürlich schneller als geringe [Morawitz[1])]. Wohlgemuth fixiert dagegen den Zeitpunkt und führt das Prinzip der Reihenmethode ein. Dieses Prinzip ist für das Thrombin nicht neu. Im Jahre 1902 hat nämlich schon Arthus[2]) einen identischen Vorschlag gemacht, indem er die Vorzüge seines Fluoridplasmas als „réactif quantitatif du fibrinferment" hervorhob.

Zu gleichen Mengen (2 ccm) Fluoridplasma setzte Arthus eine verschiedene, absteigende Anzahl von Tropfen, zuerst eines unverdünnten, dann eines auf das 10 und 100fache verdünnten Serums und füllte die Volumdifferenzen mit 1%iger NaCl-Lösung auf; die Versuchsreihen verblieben 24 Stunden bei Zimmertemperatur (10 bis 15°). Diejenigen Röhrchen, die die gleichen Gerinnungsstufen ergaben, dienten nun zum Vergleiche des Thrombingehaltes in den untersuchten Seris; waren von einem Serum für die entsprechende Gerinnungsstufe z. B. 2 Tropfen nötig gewesen, vom anderen aber 5, so berechnete Arthus hieraus die relative Stärke dieser Sera, indem er das erste als $^5/_2$, fast 3mal stärker als das zweite bezeichnete.

In der Methode Wohlgemuths finden wir einige Modifikationen. Das Fluoridplasma ist durch Magnesiumsulfatplasma (= $MgSO_4$-Plasma) ersetzt.

Statt bei Zimmertemperatur, die immerhin größeren Schwankungen unterlegen ist, läßt Wohlgemuth seine Versuchsreihen im Eisschrank stehen, um einen schädlichen Einfluß der Wärme auf das Thrombin zu vermeiden; die niedrigeren und zugleich konstanteren Temperaturen im Eisschranke haben noch die Bedeutung, daß eine eventuell hinzutretende Fibrinolyse sich nur in mäßigem Grade entwickeln könnte.

Die Berechnung der „Fibrinfermenteinheiten" in den untersuchten Seris gibt bei Wohlgemuth die Möglichkeit, deren Wirksamkeit zahlenmäßig zu belegen, obgleich diese Zahlen

---

[1]) Siehe Fußnote 1 S. 181.

[2]) M. Arthus, Un réactif quantitatif du Fibrinferment. Journ. de Physiol. et Pathol. 4, 1, 1902 oder Compt. rend. 53, 962, 1901.

natürlich nur einen Vergleichswert und dazu nur in bezug auf stets ein und dieselbe Fibrinogenlösung als Thrombinreagenz besitzen.

2. Eigene Versuchsanordnung.

Die von mir verwendeten Lösungen waren folgende:

Als Fibrinogenlösung diente mir ein nach Alex. Schmidt bereitetes $MgSO_4$-Plasma: 3 Teile Blut werden in 1 Teile 28%iger $MgSO_4$-Lösung aufgefangen, gründlich durchgeschüttelt und zentrifugiert. Das zellfreie $MgSO_4$-Plasma wurde dann im Eisschrank aufgehoben. Zu den Versuchen mußte dieses konzentrierte $MgSO_4$-Plasma verdünnt werden, indem bei mir eine 8fache Verdünnung mit 0,9%iger kalkfreier[1]) Kochsalzlösung einen befriedigenden Indicator für Thrombin ergab: bei genügendem Thrombingehalt gerann das so verdünnte Plasma rasch und vollkommen, es machten sich keinerlei Hemmungserscheinungen mehr geltend, spontan aber blieb es flüssig. Die Verdünnung wurde stets unmittelbar vor Gebrauch vorgenommen. Zur Verwendung kam ausschließlich Kaninchenblut.

Als Thrombinlösung kamen in erster Linie verschiedene Kaninchensera zur Anwendung; die entsprechende Menge Kaninchenblut ließ ich gerinnen, lockerte vorsichtig den Blutkuchen und wartete die Retraktion desselben und das Auspressen des klaren Serums ab. Gewöhnlich verblieb der Blutkuchen über Nacht im Eisschrank, das Serum wurde abgegossen und im Falle einer Trübung durch beigemischte Zellenelemente erst noch zentrifugiert. In einigen Fällen wurde das Blut mit dem Glasstabe oder Glasperlen defibriniert, ohne daß man dadurch im Verhältnis zum abgepreßten Serum wirksamere Thrombinlösungen erzielt hätte.

In zweiter Linie wurden auch reine, nach Alex. Schmidt hergestellte Thrombinlösungen verwendet. Die Dauer der Alkoholwirkung schien ohne besondere Bedeutung für die Wirksamkeit der gewonnenen Thrombinlösungen zu sein.

Ganz vereinzelt wurde auch Menschenserum und Rinderserum (als solches) gebraucht.

Jede Versuchsreihe bestand aus 9 Reagensgläsern[2]), die mit je 1 ccm einer stufenmäßig — auf das Doppelte — verdünnten Serumlösung aufgefüllt wurden, so daß das erste Reagensglas das ursprüngliche Serum enthielt, das zweite eine Verdünnung 1:2, das dritte — 1:4

---

[1]) Die Kalkfreiheit der jeweiligen 0,9%igen NaCl-Lösung wurde durch die Prüfung konzentrierter Lösungen des entsprechenden Kochsalzes mittels Zusatz 2%iger Natriumoxalatlösung sichergestellt.

[2]) Es wurden nur gut ausgekochte Gläser benutzt.

aufwies usw., bis das neunte Reagensglas eine Verdünnungsstufe von 1:256 erreichte (siehe Tabelle I). Statt den Verdünnungsgrad als solchen (1, $^1/_2$, $^1/_4$, $^1/_8$ usw.) anzugeben, bestimmt Wohlgemuth die abfallenden Thrombinmengen in Dezimalbrüchen (1, 0,5, 0,25, 0,125 usw.), die bei fortschreitender Verdünnung nur aproximative Werte darstellen (z. B. $^1/_{64} = 0{,}016$, $^1/_{256} = 0{,}004$). Bei der Berechnung der Ff.-Mengen, die im Verhältnis zu 1 ccm unverdünnten Serums geschieht, erhält Wohlgemuth daher auch nur annähernd richtige Zahlen; betraf z. B. das letzte deutliche Gerinnsel das 7. Röhrchen mit der Verdünnungstufe $^1/_{64}$, so bestimmt Wohlgemuth Ff. $= \frac{1}{0{,}016} = 62{,}5$, statt direkt den Nenner des Verdünnungsbruches 64 zur Bezeichnung der Ff.-Menge zu benutzen. Dadurch wird aber unwillkürlich der Schein erweckt, als handelte es sich um eine wirkliche Berechnung und nicht bloß um die Aufstellung relativer, an sich belangloser Vergleichswerte; denn die Formel Ff. = 62,5 (d. h. = 64) sagt nicht mehr, nicht weniger aus, als daß die Gerinnung die Verdünnungstufe 1:64 erreichte.

Die mit je 1 ccm abfallender Thrombinmengen aufgefüllten Reagensgläser erhielten nun je 2 ccm einer Fibrinogenlösung, die einem 8fach mit NaCl-Lösung verdünnten $MgSO_4$-Plasma entsprach. Zur Kontrolle diente stets ein Röhrchen, das 2 ccm Fibrinogenlösung mit 1 ccm reiner 0,9%iger NaCL-Lösung enthielt.

Von den entsprechenden parallelen Versuchsreihen kam dann die erste für 24 Stunden in den Eisschrank, die zweite wurde dauernd im Laufe mehrerer Stunden, anfangs alle $^1/_4$ Stunde, im Brutofen beobachtet und auf diese Weise in ihr der Gerinnungsverlauf in seiner stufenmäßigen Entwicklung verfolgt. Die nach Wohlgemuth bestimmten Werte (= W.-Werte) konnten so mit jenen der zweiten Reihe hinsichtlich der Wirkungsweise des Thrombins verglichen werden, zugleich aber wurde die Zeitmethode als solche einer Prüfung auf die Gesetzmäßigkeit der Thrombinwirkung unterworfen.

Die verschiedene, schon rein mechanische Art der Behandlung der beiden entsprechenden Reihen zeitigte — abgesehen von den Temperaturdifferenzen — gewisse Unterschiede in den Gerinnungsresultaten.

Die in voller Ruhe im Laufe von 24 Stunden im Eisschranke aufbewahrten Reihen, in denen der Gerinnungsprozeß keiner äußeren Erschütterung unterworfen wurde, ergaben bei stärkeren Thrombinlösungen stets solch ein Bild, daß in der größeren Anzahl der Reagensgläser der ganze Inhalt erstarrt, d. h. die Gerinnung komplett, total erschien, und dann über 2 bis 3 Gläser, in denen die partiellen Gerinnungen auch abnahmen, der Gerinnungsprozeß überhaupt abbrach. Die Beobachtung wurde hierbei, den Angaben Wohlgemuths gemäß, ohne zu schütteln, nur durch horizontales Neigen eines jeden Röhrchens vorgenommen.

Im Brutofen dagegen wurden die Reihen alle $^1/_4$ Stunde zur Betrachtung herausgenommen und die einzelnen Gläser, je nach dem Fortschreiten der Gerinnung, einem öfteren Neigen unterworfen. Diese wiederholten Erschütterungen hatten augenscheinlich zur Folge, daß erstens ein

Haften des Gerinnsels an den Glaswänden erschwert oder verhindert, und zweitens aller Wahrscheinlichkeit nach eine beschleunigte Retraktion des gebildeten Gerinnsels hervorgerufen wurde. Im Vergleiche zu den Reihen im Eisschranke war die Gerinnung in den Brutofenproben nur selten ganz komplett, wenn man darunter die unbewegliche Erstarrung des ganzen Inhaltes verstehen will, sondern die Gerinnsel in den stärkeren Serumkonzentrationen umfaßten hier zwar den größten Teil des Inhalts, waren gelatinös-kompakt, aber oft in einem kleinem Überschuß der Flüssigkeit beweglich.

In den Reihen Wohlgemuths im Eisschranke war übrigens die komplette Gerinnung mancher Gläschen nur eine scheinbare, wie ich mich später überzeugen konnte, als ich zu bestimmten Versuchen, die weiterhin besprochen werden sollen, außer der Betrachtung durch horizontales Neigen die Röhrchen auch noch aufschüttelte. Bei der wirklich kompletten Gerinnung bleibt das Gerinnsel beim Aufschütteln gelatinös-kompakt, es löst sich von den Glaswänden als vollständiger Abguß des Röhrchens und läßt nur wenig Flüssigkeit, in der es dann gleitet, austreten; bei der scheinbar kompletten Gerinnung umfaßt das Gerinnsel zwar auch den ganzen Inhalt, doch nur als dünne Haut oder Schale, die sich beim Schütteln zu einer verschieden großen Fibrinflocke zusammenzieht und mehr oder weniger Flüssigkeit freigibt. Diese Erscheinung hat auch Arthus[1]) bei seiner Bezeichnung der Gerinnungsabstufungen berücksichtigt.

Meine schematische Bezeichnung der einzelnen Gerinnungsstufen ist also folgende:

Die komplette Gerinnung, bei der der ganze Inhalt des Gläschens erstarrt war und einen kompakt-gelatinösen Abguß des Röhrchens darstellte, wurde durch 3 Kreuze +++, die fast komplette Gerinnung mit Spuren von überschüssiger Flüssigkeit, wie auch die Proben, in denen der anfangs erstarrte Inhalt beim Schütteln zu einer Fibrinflocke zusammenschrumpfte und mehr oder weniger Flüssigkeit ausschied, durch ++(+) gekennzeichnet.

Das letzte, noch deutliche, einheitliche Gerinnsel, gewöhnlich in Gestalt einer suspendierten Fibrinflocke, erhielt als Abzeichen 1 Kreuz +.

Alle Zwischenstufen der partiellen Gerinnungen, die einerseits einen kompakten, im Glase beweglichen gelatinösen Klumpen mit überschüssiger Flüssigkeit zeigen konnten, anderseits den gelatinös-klumpigen Charakter immer mehr verloren und sich der einzelnen Fibrinflocke näherten, wurden schematisch in 2 Kreuzen ++ zusammengefaßt.

Diejenigen Proben, in denen nur Spuren von Gerinnung in Gestalt von Fasern und Flöckchen vorzufinden waren, wie auch jene, die den ersten Beginn einer Gerinnung offenbarten, wurden mit einem unterstrichenen Kreuze $\dot{+}$ bezeichnet.

---

[1]) M. Arthus, Un réactif quantitatif du Fibrinferment. Journ. de Physiol. et Pathol. 4, 1, 1902 der Compt. rend. 53, 962, 1901.

Flüssig und klar gebliebene Proben oder solche mit geringer Trübung wurden als negativ ausgefallen betrachtet (—).

Zum Schlusse dieser Ausführungen soll Tabelle I, die unsere Beachtung noch weiterhin verdienen wird, meine Versuchsanordnung zusammenfassend demonstrieren.

Tabelle I.

Versuch vom 6. VII. 1911.

Nr. des Reagensglases	Serum Nr. 16 zu 1 ccm einer Verdünnung von:	$MgSO_4$-Plasma Nr. 6 verdünnt 1 : 8 ccm	Reihe I, beobachtet im Brutofen nach Verlauf von Stunden													Reihe II im Eisschrank nach 24 Std.
			1/4	1/2	3/4	1	1 1/4	1 1/2	1 3/4	2 1/4	2 3/4	3	5 1/4	8	24	
1	1	2	—	—	+	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
2	1/2	2	—	—	—	+	+	++	++	++	++	++	++	++	++	+++
3	1/4	2	—	—	—	—	—	+	+	++	++	++	++	++	++	+++
4	1/8	2	—	—	—	—	—	—	—	—	±	+	++	++	++	+++
5	1/16	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	++	++	++
6	1/32	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	++	+
7	1/64	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	—
8	1/128	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
9	1/256	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Kontr.	1 ccm NaCl	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

3. Vergleichende Untersuchungen.

Die Beschaffenheit einer thrombinhaltigen Flüssigkeit können wir nur nach deren Wirkungsweise — der Umwandlung des Fibrinogens in Fibrin — abschätzen. Bei der Beurteilung haben wir nicht nur die Menge des umgesetzten Fibrinogens, sondern auch die Schnelligkeit dieser Umwandlung zu berücksichtigen. A priori können wir annehmen, daß die quantitative Thrombinbestimmung uns hauptsächlich die umgesetzten Mengen, die Gerinnungszeiten dagegen die Energie, die Wirksamkeit einer Thrombinlösung vor Augen führen werden.

Besteht nun zwischen diesen beiden Faktoren der Thrombinwirkung ein bestimmtes Verhältnis, so daß man auf Grund des einen unbedingt einen Rückschluß auf den anderen machen könnte? Kann die quantitative Methode die Zeitmethode ersetzen, oder ist erst von einer Kombination beider eine befriedigende Aufklärung über die Beschaffenheit einer thrombinhaltigen Flüssigkeit zu erwarten?

Die nach Wohlgemuth berechneten Mengen der „Fibrinfermenteinheiten" sind mit den Ergebnissen der Zeitversuche, wie sie von mir in Verdünnungsreihen im Brutofen beobachtet wurden, in mehrfacher Hinsicht zu vergleichen. Erstens ist für uns von Bedeutung der Zeitraum, während dessen die unverdünnte Thrombin- resp. Serumlösung (die erste Probe in jeder Versuchsreihe) eine komplette Gerinnung hervorruft, d. h. die primäre (wie ich sie zum Unterschiede von den Gerinnungszeiten in den anderen Verdünnungsstufen nennen will) Gerinnungszeit (= GZ.), die in der Zeitmethode maßgebend für die Beurteilung der Thrombinmengen ist. Zweitens beanspruchen ein großes Interesse die Zeitkurven, die den zeitlichen Verlauf und das stufenmäßige Fortschreiten des Gerinnungsprozesses von Verdünnung zu Verdünnung veranschaulichen und auf diese Weise besonders deutlich das Wirkungsgesetz der Thrombinlösung zum Ausdruck bringen. Drittens kommen zum Schluß noch die Endwerte in den Brutofenreihen nach Verlauf von 24 Stunden in Betracht.

Diese drei Zeitfaktoren erfordern vorerst eine Prüfung ihres gegenseitigen Verhältnisses. Vor allen Dingen sind die zeitlichen Beziehungen zwischen der gerinnungsauslösenden Kraft der unverdünnten Thrombinlösung und zwischen jener der allmählich absteigenden Thrombinmengen, d. h. das Verhältnis der Gerinnungszeit zur Thrombinmenge von großem Interesse.

Man hat für das Thrombin ein Zeitgesetz, das an fermentative Vorgänge erinnert, bestimmen können und dementsprechende Analogien zwischen beiden gezogen. So ist es bekannt, daß die Fermentmenge auf die Reaktionsgeschwindigkeit Einfluß hat. Nur ist das gegenseitige Verhältnis zwischen diesen Faktoren nicht in allen Fällen ein gleiches. Für das Labferment fand man eine Reaktionsgeschwindigkeit, die der Fermentmenge direkt proportional ist. Für die hydrolytischen Fermente, wie das Pepsin, gilt wieder die Schütz-Borissowsche Regel, wonach die Geschwindigkeit proportional der Quadratwurzel aus der Fermentmenge wächst.

Dem „Fibrinferment" wird von manchen Autoren (Duclaux, Arthus[1]) u. a.) ebenfalls eine direkte Proportionalität

[1]) A. Schmidt, Zur Blutlehre, Leipzig 1892. Zit. nach Morawitz.

zwischen Gerinnungsgeschwindigkeit und Fermentmenge zugeschrieben. Neuerdings hat Rettger[1]) dieses Verhältnis wieder bestätigt. Dementgegen hat Fuld[2]) ein „Zeitgesetz des Fibrinfermentes" aufgestellt, das der Schützschen Regel sehr nahe kommt, nämlich, daß „einer Erhöhung der Enzymmenge aufs Doppelte eine Zunahme der Geschwindigkeit aufs Anderthalbfache (= 1,5)[3]) entspricht."

Diese Verhältnisse ließen sich auf Grund meines Versuchsmateriales recht gut verfolgen. Diesem Zwecke dienen die hier angeführten Fig. 1 bis 3, die die Ergebnisse besser, als es

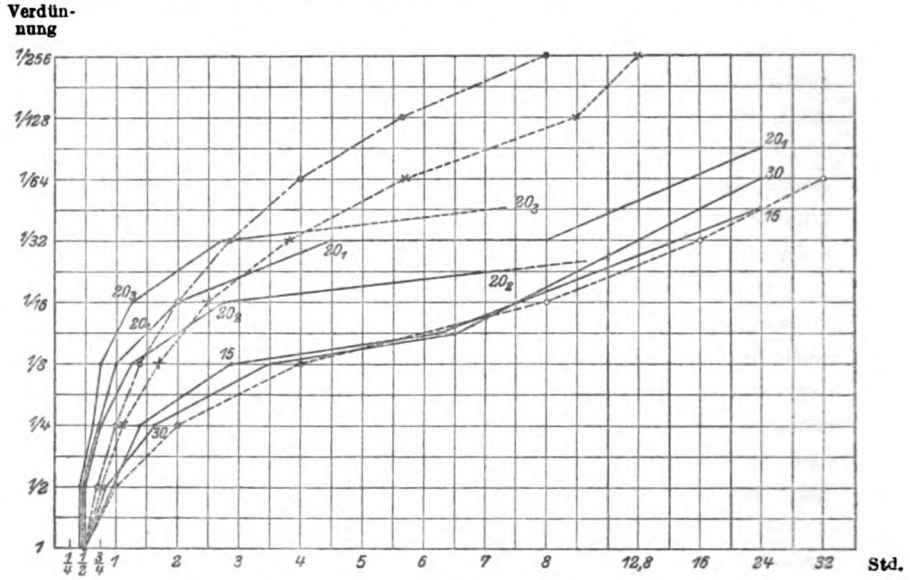


Fig. 1.

Zeitkurve nach Schütz.
„ „ Fuld.
„ der umgekehrten Proportionalität.

Zeitkurven der verschiedenen Sera.

---

[1]) L. Rettger, The Coagulation of Blood. Amer. Journ. of Physiol. 24, Nr. 4, 406, 1909.

[2]) E. Fuld, Über das Zeitgesetz des Fibrinferments. Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 2, 514, 1902.

[3]) Anderthalb — 1,5 — unterscheidet sich von $\sqrt{2} = 1{,}414$ so wenig, daß der Schützsche Ausdruck tatsächlich den Fuldschen Werten sehr nahe steht.

in Worten geschehen könnte, veranschaulichen. Es wurden in jeder der drei Figuren diejenigen Versuche zusammen-

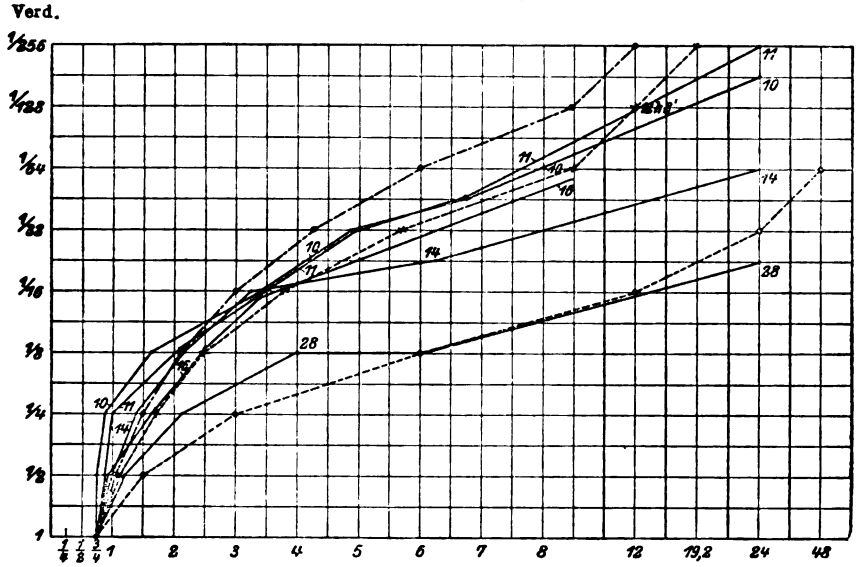


Fig. 2.

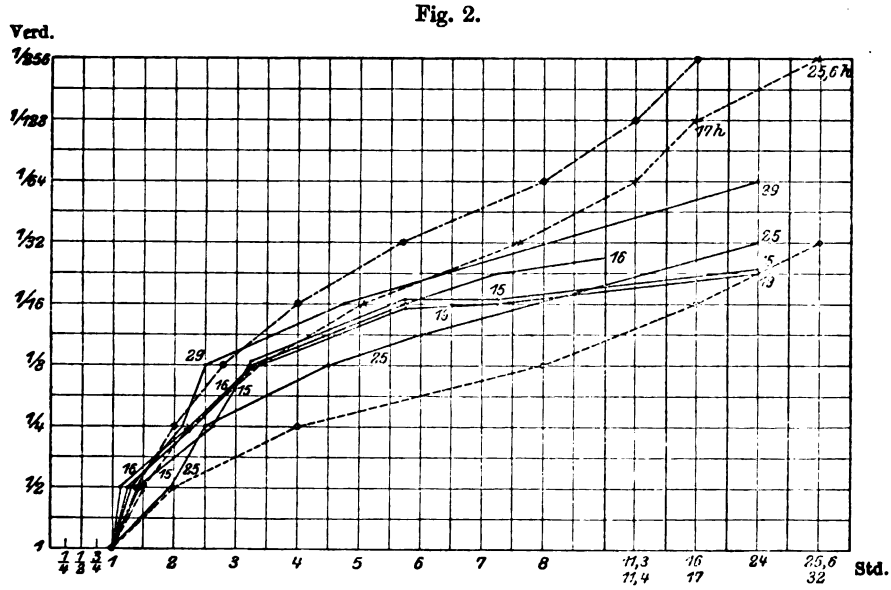


Fig. 3.

gestellt, die für die erste Probe gleiche primäre Gerinnungszeiten ergeben hatten; diese Zeiten bildeten dann den Aus-

gangspunkt zur Berechnung der vergleichenden Werte, wie sie der Schützschen Regel, dem Fuldschen Gesetze und dem Gesetze der direkt umgekehrten Proportionalität zwischen Zeit und Thrombinmenge entsprechen.

Schon ein flüchtiger Blick auf den Verlauf der einzelnen Kurven genügt, um das anfangs steilere Ansteigen der Kurven und dann deren progressive Abflachung zu erkennen. In gewissen Grenzen variieren die einzelnen Kurven ihren Verlauf, so daß einerseits die Schützsche Kurve, als die steilste, um etwas überschritten, anderseits die Kurve der umgekehrten Proportionalität, als die flachste, erreicht wird. Trotz dieser Differenzen kann man für alle Kurven gemeinsam eine erste Phase, in der sich dieselben merklich an die nach Fuld, z. T. auch nach Schütz berechneten Werte halten, und eine zweite Phase, wo mit einer Abflachung eine Divergenz mit den genannten Kurven stattfindet, unterscheiden. Besonders anschaulich bringen diese Verhältnisse die Durchschnittszahlen der Gerinnungszeiten (Tabellen II u. III) zum Ausdruck, indem wir hier noch genauer ein etappenmäßiges Verhalten derselben feststellen können: bis zur zweiten bis dritten Verdünnungsstufe finden wir die größte Übereinstimmung mit den Schützschen Werten, denen allerdings die Fuldschen Zahlen gerade auf dieser ersten Strecke sehr nahe stehen; dann verlassen die Gerinnungszeiten der weiteren Verdünnungsstufen das Schützsche Gesetz und zeigen nun neben einer Verlängerung der Gerinnungsdauer die größte Übereinstimmung mit den Fuldschen Werten, denen sie aber auch nur eine Strecke weit bis zur fünften bis sechsten Verdünnungsstufe folgen; endlich reichen auch die Fuldschen Werte nicht mehr aus, die Gerinnungszeiten nehmen eine noch größere Ausdehnung an und nähern sich bisweilen eher dem Gesetze der umgekehrten Proportionalität. Entsprechend diesen drei Etappen zeigen die Zeitkurven einen steilen, mehr vertikalen Anstieg (besonders Tabelle II), dann eine der Diagonale näher kommende Fortsetzung und endlich einen zur Horizontalen neigenden Schluß. Morawitz[1]) konnte in einer seiner früheren Arbeiten ebenfalls zeigen, daß mit steigender Thrombinmenge

[1]) P. Morawitz, Zur Kenntnis der Vorstufen des Fibrinferments. Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 4, 381, 1903.

die Gerinnungszeiten sich immer mehr der Schützschen Regel näherten, während geringe Thrombinmengen Zahlen ergaben, die in der Mitte zwischen der Schützschen resp. Fuldschen Regel und einer einfachen Proportionalität standen.

Tabelle II.

Absteigende Thrombinmenge	Bei Thrombinmenge 1 GZ. = 1/2 Stunde									Einzelne Etappen
	Sera					Durchschnitt von 5 Seris	Zeitgesetze			
	20_1 vom 6.VII.	20_2 vom 8.VII.	20_3 vom 7.VII.	15 vom 3.VII.	30 vom 18. VII.		Fuld	Schütz	Proport.	
1	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	**0,5**	0,5	**0,5**	0,5	
1/2	0,5	0,5	0,5	1,0	0,75	**0,7**	0,75	**0,7**	1,0	I
1/4	0,75	0,75	0,7	1,4	1,0	**1,0**	1,1	**1,0**	2,0	
1/8	1,0	1,25	0,75	2,8	3,5	1,9	1,7	1,4	4,0	
1/16	2,0	2,75	1,25	(6,25)	(6,5)	2,4 (3,8)	2,5	2,0	8,0	II
1/32	4,5	(7,25)	2,75			3,6 (4,8)	3,8	2,8	16,0	
1/64				(24,0)	24,0	24,0	5,7	4,0	32,0	
1/128	(24,0)					24,0	8,5	5,7	64,0	III
1/256							12,8	8,0	128,0	

Tabelle III.

Absteigende Thrombinmenge	Bei Thrombinmenge 1 GZ. = 3/4 Stunde									Einzelne Etappen
	Sera					Durchschnitt von 5 Seris	Zeitgesetze			
	10 vom 1.VII.	11 vom 1.VII.	14 vom 3.VII.	16 vom 4.VII.	28 vom 15.VII.		Fuld	Schütz	Proport.	
1	0,75	0,75	0,75	0,75	0,75	**0,75**	0,75	**0,75**	0,75	
1/2	0,75	0,85	1,0	1,9	1,2	**0,94**	1,1	**1,0**	1,5	I
1/4	0,85	1,0	1,4	1,75	2,1	**1,4**	1,7	**1,5**	3,0	
1/8	1,65	2,1	2,1	2,5	4,0	2,5	2,5	2,1	6,0	
1/16	3,4	3,9	3,25	3,4		3,5	3,8	3,0	12,0	II
1/32	4,85	4,9	(6,25)		(24,0)	4,9 (5,3) (10,0)	5,7	4,3	24,0	
1/64	6,75	6,75	24,0			15,8	8,5	6,0	48,0	
1/128							12,8	8,5	96,0	III
1/256	(24,0)	24,0				24,0	19,2	12,0	192,0	

Während also in der ersten Phase die Gerinnungszeiten eine bestimmte Gesetzmäßigkeit offenbaren und die Verminderung der Thrombinmenge um die Hälfte einen merklichen, aber relativ geringen Einfluß auf die Dauer des Gerinnungs-

prozesses ausübt, machen sich in der zweiten Phase die weiter absteigenden Thrombinmengen immer mehr geltend, die Gerinnungszeiten nehmen unverhältnismäßig an Dauer zu und die ganze Erscheinung erhält einen mehr regellosen Charakter. Genau dieselben Beobachtungen hat auch Fuld[1]) seinerzeit machen können.

Auf die Bedeutung der letzten Erscheinung komme ich später in einem anderen Zusammenhange zurück. Gegenwärtig ist für uns von Wichtigkeit die Tatsache, daß in der Mehrzahl der Fälle für eine Verdünnungsreihe mit absteigenden Thrombinmengen ein bestimmtes Wirkungsgesetz festzustellen sei. Wenn es auch in allen seinen Teilen keinem der bekannten fermentativen Zeitgesetze entspricht, an und für sich hat es aber seine Gültigkeit. Wir können es angesichts der vorgeführten Diagramme in folgende Worte fassen: je schneller eine bestimmte Thrombinlösung Gerinnung hervorruft, je kürzer also die primäre Gerinnungszeit ist, desto energischer werden im Verhältnis die weiteren Verdünnungen derselben Thrombinlösung wirken, desto steiler wird die entsprechende Zeitkurve verlaufen. Deutlich beweisen das die Durchschnittszahlen von je 5 Seris (Tabellen II und III), wo wir nach Ablauf von $2^1/_2$ Stunden, z. B. je nach der primären Gerinnungszeit, den Gerinnungsprozeß auf verschiedenen Verdünnungsstufen antreffen: so bei GZ. = $^1/_2$ Stunde ist die Gerinnung bis zur fünften, bei GZ. = $^3/_4$ Stunde bis zur vierten, bei GZ. = 1 Stunde nur bis zur dritten Probe vorgeschritten.

Was nun den dritten Zeitfaktor, die Endwerte, nach Ablauf von 24 Stunden anbetrifft, so kann man im allgemeinen feststellen, daß auch letztere in einem bestimmten Verhältnisse zur primären Gerinnungszeit und zum Verlauf der Zeitkurven stehen: je kürzer die primäre Gerinnungszeit, je steiler die Zeitkurve, desto höher der Endwert.

Nachdem die gesetzmäßigen Beziehungen zwischen den drei Zeitfaktoren festgelegt sind, können die nach Wohlgemuth bestimmten Werte mit ihnen verglichen werden.

---

[1]) E. Fuld, Über das Zeitgesetz des Fibrinferments. Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 2, 514, 1902.

Tabelle IV.

Absteigende Thrombinmenge	Bei Thrombinmenge 1 GZ. = 1 Stunde									Einzelne Etappen
	Sera					Durchschnitt von 5 Seris	Zeitgesetze			
	15 vom 7.VII.	16 vom 7.VII.	19 vom 7.VII.	25 vom 15 VII	29 vom 15. VII.		Fuld	Schütz	Proport.	
1	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	**1,0**	1,0	**1,0**	1,0	I
1/2	1,4	1,2	1,25	2,0	1,25	**1,4**	1,5	**1,4**	2,0	
1/4	2,7	2,25	2,25	2,5	2,2	2,4	2,3	2,0	4,0	II
1/8	3,25	3,25	3,25	4,5	2,5	3,4	3,4	2,8	8,0	
1/16	5,75	5,75	5,75	(6,0)	4,75	5,5 (5,6)	5,1	4,0	16,0	
1/32	24,0	(7,25)	24,0	24,0	24,0	24,0 (19,8)	7,6	5,7	32,0	III
1/64						24,0	11,4	8,0	64,0	
1/128							17,1	11,3	128,0	
1/256							25,6	16,0	256,0	

Wenn wir uns die Fig. 4, die ich aus einer größeren Reihe anderer ähnlicher Versuche herausgreife, betrachten, so finden wir im großen und ganzen eine recht gute Übereinstimmung zwischen den W.-Werten und den einzelnen Faktoren der Zeitmethode, was um so weniger

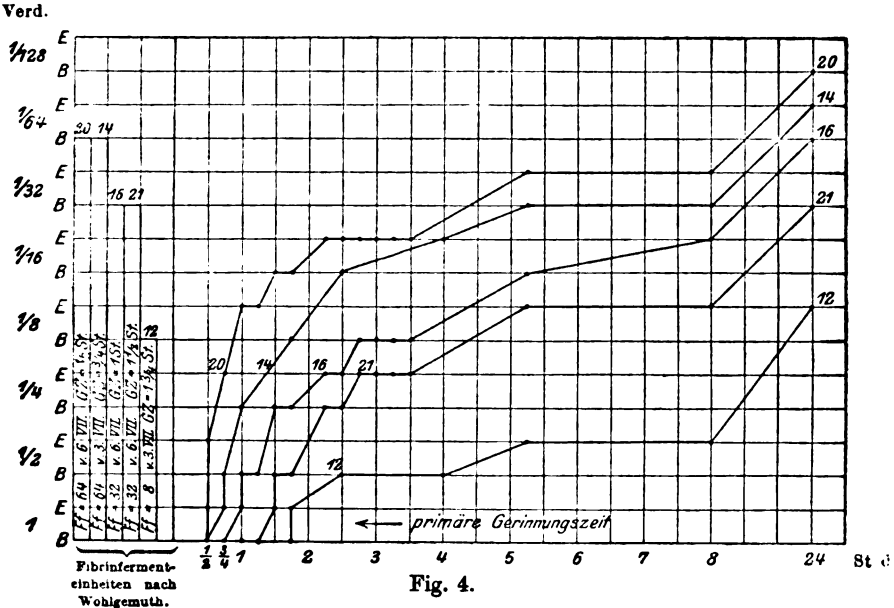


Fig. 4.

B = Beginn } der Gerinnung.
E = Ende }

überraschend wirkt, als wir für die Endwerte der Brutofenreihen ein ähnliches Verhalten feststellen konnten.

Das Serum 20 mit einer primären GZ. = $^1/_2$ Stunde erweist sich als stark wirkende Thrombinlösung, zeigt eine steil ansteigende Zeitkurve und erreicht eine hohe Verdünnungsstufe; dementsprechend ist Ff.-Menge nach Wohlgemuth eine recht bedeutende (= 64). Beim Serum 16 setzt die Gerinnung in der ersten Probe nach $^3/_4$ Stunden ein, erreicht aber den Grad einer kompletten erst nach 1 Stunde, d. h. die primäre GZ. = 1 Stunde ist doppelt so lang wie beim Serum 20; entsprechend dieser geringeren Energie des Serums 16 sehen wir dessen Zeitkurve flacher ansteigen, in einem bestimmten Abstande unterhalb der erstgenannten Kurve verlaufen und auch einen niedrigeren Endwert erreichen: W.-Ff. = 32 ist doppelt so niedrig wie Ff. = 64 beim Serum 20, was sogar eine direkt umgekehrte Proportionalität zur primären Gerinnungszeit darstellen würde (vgl. hierzu auch Tabelle I). Das Serum 12 mit einer recht protahierten primären GZ. = $1^3/_4$ Stunde erweist sich auch in der Wirkung als minderwertig, indem die Zeitkurve ganz flach, kaum ansteigend verläuft, die Gerinnung einen sog. schleppenden Charakter zeigt und der Endwert weit hinter den anderen zurückbleibt; dementsprechend ist auch W.-Ff. = 8 sehr niedrig.

Als Zwischenstufen zwischen den genannten drei Seris finden wir noch zwei Sera 14 und 21. Das Serum 14, das mit der primären GZ. = $^3/_4$ Stunde zwischen dem Serum 20 (GZ. = $^1/_2$ Stunde) und 16 (GZ. = 1 St.) steht, nimmt auch im Verlaufe seiner Zeitkurve, wie in dem erreichten Endwerte, also in der Wirkungsenergie, eine Mittelstellung ein; W.-Ff. = 64 entspricht dagegen dem W.-Werte beim Serum 20, so daß auf Grund der Ff.-Mengen beide Sera identifiziert werden könnten. Es scheint, als ob die Differenzierung nach W.s Methode weniger exakt, als mittels der Zeitmethode gelingen wollte, was zum Teil natürlich daran liegt, daß wir bei der Zeitmethode in jeder Verdünnung zwei Stufen, den Beginn und das Ende der Gerinnung, unterscheiden können während es in W.s Reihenmethode nur auf den Verdünnungsgrad als solchen allein ankommt. Das Serum 21 nimmt wiederum eine Mittelstellung zwischen den Seris 16 und 12 ein, indem seine GZ. = $1^1/_2$ Stunde näher zum Serum 12 (GZ. = $1^3/_4$ Stunde) als zum Serum 16 (GZ. = 1 Stunde) steht. Dessenungeachtet entsprechen der Verlauf der Zeitkurve und der Endwert des Serums 21 mehr jenen des Serums 16, in dem der Abstand hier viel geringer als dort erscheint: W.-Ff. = 32 weist nicht nur auf die Nähe zum Serum 16 hin, sondern verfließt vollständig mit der Ff.-Menge desselben. Darin äußert sich wiederum die ungenügende Differenzierung. Wenn man beim Serum 21 außer der primären GZ. auch den Beginn der Gerinnung in Betracht zieht, so gewinnt man den Eindruck, daß das Einsetzen der Gerinnung für die Wirkungsweise des betreffenden Serums doch von Bedeutung sein könnte: der Beginn der Gerinnung (= 1 Stunde) entspricht gerade der primären GZ. = 1 Stunde des Serums 16, zu dem das Serum 21 jedenfalls näher steht als zum Serum 12.

Wenn wir an der Hand der kleinen Tabelle V noch einmal die besprochenen Versuchsergebnisse vergleichen, so können wir den Schluß ziehen, daß im allgemeinen die Resultate der Zeitmethode mit den nach Wohlgemuth erhaltenen Werten gut übereinstimmen: die Gerinnungszeiten stehen in einem bestimmten Verhältnis wie zu den Thrombinmengen, so auch zur Wirkungsenergie des Thrombins; daher können die Thrombinmengen auch an und für sich, d. h. die nach Wohlgemuth berechneten Mengen der „Fibrinfermenteinheiten" für die Wirkungsweise, für die Energie einer Thrombinlösung geltend gemacht werden.

Tabelle V.

Datum	Serum	Prim. GZ.	W.-Ff.	Endwerte nach 24 St.
6. VII.	20	$^1/_2$ Stunde	64	$^1/_{128}$ Beginn der Gerinnung
3. VII.	14	$^3/_4$ „	64	$^1/_{64}$ Ende „ „
6. VII.	16	1 „	32	$^1/_{64}$ Beginn „ „
6. VII.	21	$1^1/_2$ Stunden	32	$^1/_{32}$ „ „ „
3. VII.	12	$1^3/_4$ Stunde	8	$^1/_8$ Ende „ „

Als einzigen Nachteil der Methode Wohlgemuths könnte man auf Grund der bisherigen Erörterungen die im Vergleiche mit der Zeitmethode weniger feine Differenzierung der einzelnen Thrombinlösungen nennen, doch würde sich dieser Umstand durch entsprechende Graduierung der Verdünnungsstufen bedeutend mildern lassen.

Um den allgemeinen Eindruck von der Übereinstimmung der Zeitfaktoren mit den W.-Werten zahlenmäßig zu belegen, habe ich folgende Tabelle VI, in der die Mengen der „Fibrinfermenteinheiten" entsprechend den jeweiligen primären Gerinnungszeiten geordnet sind, zusammengestellt. Man ersieht aus dieser Tabelle, daß die W.-Werte tatsächlich in einem bestimmten Verhältnis zu den Gerinnungszeiten stehen, daß aber zugleich mannigfache Schwankungen, und zwar in recht weiten Grenzen, vorkommen können.

Das als gesetzmäßig zu betrachtende Verhalten ist in der Tabelle VI durch fettgedruckte Zahlen markiert: bei GZ. = $^1/_4$ Stunde kann man als entsprechend die W.-Werte 256 und 128 annehmen; bei GZ. = $^1/_2$ Stunde würden 128 Ff.-Mengen den normalen Wert ausmachen, indem man aber mit Schwankungen wie nach oben (Ff. = 256), so auch nach unten (Ff. = 64) im Rahmen einer Verdünnungsstufe zu rechnen hätte; bei

Tabelle VI.

Die Mengen der Fibrinfermenteinheiten (= Ff.) nach den Gerinnungszeiten (= GZ.) geordnet.

GZ. = 1/4 St.			GZ. = 1/2 St.			GZ. = 3/4 St.			GZ. = 1 St.			GZ. = 1 1/4–1 3/4 St.			GZ. = 2–2 3/4 St.			GZ. = 4–5 St.		
Datum	Serum	Ff.	Datum	Serum	Ff.	Datum	Serum	Ff.	Datum	Serum	Ff.	Datum	Serum	Ff.	Datum	Serum	Ff.	Datum	Serum	Ff.
29.VI.	10	**256**	27.VI.	7	**256**	4.VII.	16	**128**	29.VI.	7	**64**	4.VII.	16	**32**	30.VI.	10	**16**	12.VII.	23	**8**
28.VI.	10	**128**	30.VI.	10	**128**	15.VII.	28	128	7.VII.	16	64	6.VII.	21	32	10.VII.	20	16	10.VII.	23	**16**
12.VII.	T. 1	128	4.VII.	17	128	30.VI.	11	**64**	15.VII.	25	64	15.VII.	26	**32**	29.VI.	9	16	18.VII.	28	16
15.VII.	T. 1	32	18.VII.	30	128	3.VII.	14	64	28.VI.	8	**32**	17.VII.	29	**32**	10.VII.	19	**32**	20.VII.	31	16
18.VII.	T. 2	32	4.VII.	14	**64**	29.VI.	6	64	7.VII.	15	32	3.VII.	12	8	12.VII.	24	64			
10.VII.	22	16	6.VII.	20	64	12.VII.	23	4	7.VII.	19	32				20.VII.	32	64			
18.VII.	T. 2	16	7.VII.	20	64				15.VII.	29	256									
17.VII.	T. 1	8	3.VII.	15	32															
12.VII.	T. 1	4	27.VI.	6	32															
			4.VII.	18	8															

GZ. = 3/4 Stunde können wir als übliche Ff.-Menge 64, als die nächst häufige 128 betrachten, während bei GZ. = 1 Stunde dieselbe Ff. = 64 die deutliche Neigung einen Ausschlag nach unten um einen Verdünnungsgrad bis Ff. = 32 zu geben zeigt. Bei den weiter ausgedehnten Gerinnungszeiten sehen wir dann die Ff.-Mengen um das Doppelte fallen, aber auch hier gehören Schwankungen um eine Verdünnungsstufe entweder nach oben oder nach unten zu gewöhnlichen Erscheinungen.

Während einerseits die meisten vorgeführten Zahlen ein gesetzmäßiges Verhalten zwischen primärer Gerinnungszeit und W.-Werten im Sinne eines direkt umgekehrten Verhältnisses gar nicht verkennen lassen und somit den anfänglichen Eindruck nur bestätigen, müssen anderseits die vielen Ausnahmen, die besonders bei GZ. = 1/4 Stunde beobachtet werden, in die Augen fallen. Versagt in diesen Fällen die Methode Wohlgemuths gegenüber der Zeitmethode, oder handelt es sich auch bei der letzteren um abnorme Verhältnisse, die mit dem Zeitgesetze in Widerspruch stehen?

Besonders auffallend, wie gesagt, ist das Mißverhältnis zwischen GZ. und W.-Werten dort, wo bei der kürzesten

GZ. = $^1/_4$ Stunde, d. h. bei der energischsten Wirkungsweise des Thrombins die Ff.-Mengen ganz geringe Zahlen aufweisen. Einen Aufschluß über diese sonderbare Erscheinung gibt uns erst die Zeitkurve, die das Wirkungsgesetz der fraglichen Thrombinlösungen aufdeckt. Denn wie uns Fig. 5 lehrt, zeigen alle diese abweichenden Thrombinlösungen mit absteigenden Thrombinmengen eine unverhältnismäßig rasch zunehmende Ausdehnung der Gerinnungszeiten, so daß die ganze Kurve abgeflacht erscheint und nur niedrige Endwerte erreicht. Also trotz einer kurzen primären Gerinnungszeit, die eine energische Wirkungsweise der Thrombinlösung voraussetzen ließe, sehen wir die Aktivität mit zunehmender Verdünnung rasch abnehmen und bald endgültig abbrechen. Hier stehen somit die Thrombinquantitäten im Einklang mit den Zeitkurven und den Endwerten, in vollem Gegensatze aber zu den primären Gerinnungszeiten. Die Ff.-Mengen an und für sich sagen in diesen Fällen nichts über die tatsächliche Wirkungsenergie der unverdünnten Thrombinlösung aus. Alle Methoden, die nur die quantitativen Verhältnisse berücksich-

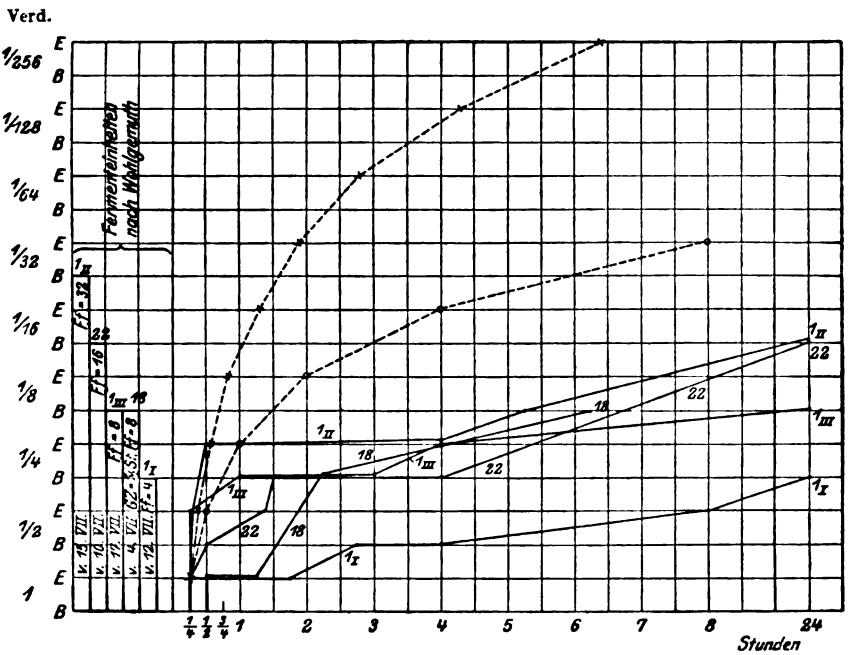


Fig. 5.

tigen, müssen in ähnlichen Fällen versagen, und auch Wohlgemuths Methode läßt uns hier im Stiche. Wohlgemuths Satz, daß die Zeitmethoden „an sich nicht geeignet wären, das Wirkungsgesetz eines Fermentes zu ermitteln", läßt sich direkt umkehren und auf die Methode Wohlgemuths selbst anwenden: in den genannten Fällen reichen die quantitativen Vergleichswerte derselben nicht aus, um die Wirksamkeit einer Thrombinlösung zu bestimmen, während die Zeitmethode hier zu Recht bestehen bleibt.

Aus diesen Tatsachen müssen wir folgern, daß außer den oben besprochenen, die Mehrzahl bildenden Fällen, in denen die primären Gerinnungszeiten ein bestimmtes Zeit- und Wirkungsgesetz den Thrombinlösungen vorschreiben und in einem bestimmten, umgekehrten Verhältnis zu den Mengen der „Fibrinfermenteinheiten" stehen, auch gewisse Ausnahmen vorkommen können, in denen eine Diskrepanz zwischen primärer Gerinnungszeit und Thrombinmenge beobachtet wird und das Zeitgesetz versagt. In letzteren Fällen wird die Zeitmethode in der primären Gerinnungszeit ein maßgebendes Kriterium zur Beurteilung einer Thrombinlösung liefern, doch erst in Verbindung mit den Zeitkurven und Endwerten, an deren Stelle auch die nach Wohlgemuth berechneten Ff.-Mengen treten können, wird ein vollständiges Bild von der Beschaffenheit dieser Thrombinlösung gegeben sein.

Aus diesen Betrachtungen ergibt es sich eigentlich von selbst, welchen Weg man am besten zur Untersuchung einer fraglichen Thrombinlösung einzuschlagen hätte. Da man in keinem Falle im voraus wissen kann, ob man es mit gesetzmäßigen Verhältnissen oder mit einer Abweichung zu tun haben wird, so hat man natürlich eine Versuchsanordnung zu wählen, bei der man allen bekannten Möglichkeiten gerecht würde. Wenn die primären Gerinnungszeiten in manchen Fällen nur die Wirkungsenergie einer Thrombinlösung angeben, ohne den meist wohl stichhaltigen Rückschluß auf die Thrombinmengen zu erlauben, so werden wir diesen Mangel durch eine quantitative Bestimmung der umgesetzten Substanzen ersetzen. Wenn auch die Zeitmethode sich in dieser Beziehung das Prinzip der Reihenmethode zunutze machen und durch genaue zeitliche Beobachtung der Verdünnungsreihen wohl am besten alle Einzelheiten der Wirkungsweise einer Thrombinlösung aufdecken könnte, so ist dieser Untersuchungsmodus für gewöhnlich doch so ermüdend und zeitraubend, daß eine Vereinfachung, die annähernd gleiche Resultate gäbe, hier höchst willkommen sein müßte. Wohlgemuths Methode bietet nun einen solchen Ersatz. Kurz skizziert, würde sich der Gang

einer Untersuchung so gestalten, daß man eine Verdünnungsreihe nach Wohlgemuth mit absteigenden Mengen der fraglichen Thrombinlösung herstellte und dieselbe seinen Angaben gemäß behandelte, gleichzeitig aber noch eine Gerinnungsprobe nur mit der unverdünnten Thrombinlösung ansetzte und die Gerinnungszeit feststellte.

Man erhielte auf diese Weise eine deutliche Vorstellung von der Wirkungsenergie, wie auch von der Menge der umgesetzten Substanzen, d. h. von der Beschaffenheit der betreffenden Thrombinlösung im ganzen.

Wodurch die Abweichungen von dem gesetzmäßigen Verhalten der Thrombinlösungen in ihrer Wirkungsweise bedingt waren, läßt sich für unsere Fälle nicht mit Sicherheit feststellen. Erwähnung verdient der Umstand, daß in allen diesen abweichenden Fällen die nach Alex. Schmidt bereiteten reinen Thrombinlösungen und ältere Sera zur Anwendung gekommen waren. Wahrscheinlich handelte es sich um irgendwelche physikalischen Veränderungen, die durch die Verdünnung bewirkt wurden.

4. Zusammenfassung.

Wohlgemuths Methode „zur quantitativen Bestimmung des Fibrinferments" kann zur Beurteilung der Gerinnungsfähigkeit des genuinen Blutes nicht verwendet werden. Die quantitative Thrombinbestimmung in defibriniertem Blute gibt eben nur den Thrombingehalt im Serum an, sagt aber nichts über die bei der Gerinnung überhaupt gebildeten Thrombinmengen aus; daher liefert Wohlgemuths Methode an Stelle der Gerinnungszeiten kein gleichwertiges Kriterium und kann den Zeitmethoden in dieser Hinsicht nicht an die Seite gesetzt werden. Sie kommt mit letzterer nur zur Messung des Thrombingehalts in irgendwelchen Lösungen, wie z. B. auch im Serum, in Vergleich. Solange die Natur des Thrombins noch nicht ergründet ist, kann von einer quantitativen Bestimmung im eigentlichen Sinne dieses Wortes[1]) nicht die Rede sein; bloß aus der Wirkungsweise einer Thrombinlösung können wir Rückschlüsse auf die vorhandenen Thrombinmengen machen. Zur Beurteilung der Wirkungsweise ist aber die Menge der umgesetzten Substanzen, wie auch die Zeit, in der die Umwandlung vor sich ging, von gleich großer

[1]) Auch die quantitativen Beziehungen des Hirudins zum Thrombin geben kein absolutes, sondern nur ein relatives Maß ab.

Bedeutung. Während die Zeitmethode ihre Schlüsse aus der Wirkungsenergie einer Thrombinlösung zieht und diese Energie nach der Reaktionsgeschwindigkeit zeitlich bestimmt, urteilt die Methode Wohlgemuths nach den umgesetzten Mengen, indem die letzte noch wirksame Verdünnungsstufe hier maßgebend ist. Beide Methoden liefern also nur relative Werte. Ein Vergleich derselben zeigte für die Mehrzahl der Fälle eine Übereinstimmung in Gestalt eines direkt umgekehrten Verhältnisses, so daß der kürzesten Gerinnungszeit die höchsten Werte nach Wohlgemuth entsprachen, und umgekehrt. Diese Verhältnisse konnten erst durch das Wirkungsgesetz des Thrombins, das mittelst zeitlicher Beobachtungen von Verdünnungsreihen festgestellt wurde, anschaulich und beweiskräftig dargestellt werden. Besonders wertvoll erwiesen sich die Ergebnisse der zeitlichen Beobachtungen, in Gestalt von Zeitkurven und Endwerten, zur Erklärung einiger Abweichungen, in denen ein Mißverhältnis, eine Diskrepanz zwischen Gerinnungszeit und W.-Werten gefunden wurde. Die niedrigen Ff.-Mengen, die in einigen Fällen zu den kurzen primären Gerinnungszeiten in vollem Widerspruch standen, konnten hier durch den weiteren zeitlichen Verlauf der Gerinnungsreaktion bestätigt werden. Diese Abweichungen haben nun die Bedeutung, daß sie erstens keine absolute Identifizierung der relativen Werte der Zeitmethode mit jenen Wohlgemuths zulassen, zweitens keine absolute Abhängigkeit der Wirkungsenergie von der Thrombinmenge beweisen und drittens zur großen Vorsicht in den Rückschlüssen aus diesen einzeln gewonnenen Resultaten auf die tatsächliche Beschaffenheit einer Thrombinlösung zwingen. Daraus ergibt sich der zweckmäßigste Weg zur Erzielung einer möglichst einwandfreien Versuchsanordnung in einer Kombination der Methode Wohlgemuths mit der Zeitmethode: durch die Bestimmung der umgesetzten Mengen einerseits und der Reaktionsgeschwindigkeit, d. h. der Wirkungsenergie, andrerseits wird die Beschaffenheit einer thrombinhaltigen Flüssigkeit am besten beurteilt werden können.

II. Teil.

Beiträge zur Frage über das Wesen des Gerinnungsvorganges.

Wohlgemuths[1]) Reihenmethode, die bei der Beurteilung thrombinhaltiger Flüssigkeiten nur in Verbindung mit der Zeitmethode Sicheres zu leisten vermochte, erwies sich als vorzügliches Mittel zur Beleuchtung gewisser eigentümlicher Beziehungen, die zwischen den beiden bei der Gerinnung ausschlaggebenden Faktoren, dem Thrombin und dem Fibrinogen, zu bestehen schienen und regelmäßig bei absteigenden Thrombinmengen in Gestalt der partiellen Gerinnungen in Erscheinung traten.

Zur Erklärung dieser partiellen Gerinnungen können verschiedene Möglichkeiten herangezogen werden. Geht man von der fermentativen Natur des Thrombins (resp. Fibrinferments) aus, so lassen sich für die partiellen Gerinnungen bei absteigenden Thrombinmengen zweierlei Gründe anführen: erstens kann man annehmen, daß durch die progressive Verdünnung einer Thrombinlösung ihre Wirksamkeit eine derartige Abschwächung erfährt, daß der Ablauf der Gerinnungsreaktion auf einen längeren Zeitraum hinausgeschoben wird; zweitens käme als Ursache der partiellen Gerinnungen ein Gleichgewichtszustand in Betracht, der durch irgendwelche hinzukommenden, hemmenden Einflüsse bedingt wäre. Sieht man dagegen von dem fermentativen Charakter des Gerinnungsvorganges ab, so löst sich die Erscheinung der partiellen Gerinnungen in der einfachen Vorstellung von quantitativen Beziehungen zwischen zwei Komponenten auf, die miteinander auf die eine oder andere Weise reagieren.

1. Beurteilung der Verhältnisse vom fermentativen Standpunkte aus.

Um die vielleicht übermäßige Verdünnung des „Fibrinfermentes" für die partiellen Gerinnungen verantwortlich zu machen, müssen wir die Beziehungen, die zwischen Fermentmenge und Reaktionsgeschwindigkeit herrschen, auf diese Erklärungsmöglichkeit hin prüfen, indem wir zugleich auf die

[1]) J. Wohlgemuth, Eine neue Methode zur quantitativen Bestimmung des Fibrinfermentes usw. Diese Zeitschr. 25, 79, 1910.

vorhergehenden Tabellen und den entsprechenden Text S. 190 bis 192 verweisen.

Wir haben gesehen, daß das Thrombin in seiner Wirkung einem bestimmten Zeitgesetz folgt. Letzteres entspricht anfangs der Schützschen und Fuldschen Regel, weicht aber dann von denselben ab und zeigt mit fortgesetzter Verdünnung einen unverhältnismäßig langsamen, mehr regellosen Gerinnungsverlauf. Bei nachhaltiger Beobachtung wird schließlich aber doch ein Zeitpunkt erreicht (vgl. Tabelle VII), von dem ab man keine weitere Entwicklung des Gerinnungsprozesses feststellen kann. Den fallenden Thrombinmengen entsprechend findet man die Gerinnung auf verschiedenen Stufen stehen geblieben, in den höchsten Verdünnungen kann sogar jede Spur von Gerinnung fehlen. Nun ist eines der wichtigsten Attribute einer fermentativen Substanz wohl deren Eigenschaft, im Verhältnis zur eigenen Quantität überaus große Mengen irgendeines Substrates verwandeln zu können, ohne selbst im Verlaufe der Reaktion merklich an Wirksamkeit zu verlieren [Oppenheimer[1]), Samuely[2])]. Beim „Fibrinferment" müßten also schon minimale Mengen ausreichen, um mit einer der Fermentmenge entsprechenden Reaktionsgeschwindigkeit komplette Gerinnung hervorzurufen, oder die Fermentwirkung müßte von einer bestimmten Verdünnung an überhaupt ausfallen, wenn die katalytische Kraft nicht mehr ausreichen sollte. In meinen Versuchsreihen kann also für die Reagensgläser, in denen die Gerinnung ausgeblieben war, eine „übermäßige" Verdünnung wohl verantwortlich gemacht werden, wenn auch die Thrombinmengen keineswegs „minimal" zu nennen sind. Daß aber mit ansteigenden Thrombinmengen die Gerinnung nur stufenmäßig anwächst und nach bestimmter Frist auf diesen Stufen stehen bleibt, dieser Erscheinung kann die Annahme einer „übermäßigen" Verdünnung nicht als Erklärung dienen; dagegen spricht die Auffassung der Fermente als Katalysatoren, wie die Erfahrungen über fermentative Substanzen überhaupt. Die Wirkungsweise des Thrombins weicht auch insofern von anderen Fermenten ab, als für diese

[1]) C. Oppenheimer, Die Fermente und ihre Wirkungen, II. Aufl. Leipzig 1903.

[2]) F. Samuely, Tierische Fermente. Oppenheimers Handb. der Biochem. 1, 501, 1909.

die Schützsche Regel nur für geringere Konzentrationen gilt, während die gerinnungsauslösende Kraft des Thrombins schon in höheren Konzentrationen bei fortschreitender Verdünnung sehr rasch erlahmt und abbricht.

Alle diese Erwägungen lassen vom fermentativen Standpunkte aus zur Erklärung der partiellen Gerinnungen nur noch die Annahme übrig, daß es sich hierbei um einen Gleichgewichtszustand handelt oder aber daß das Thrombin im Laufe des Versuches unwirksam wird. Über diese letzte Möglichkeit vgl. den folgenden Abschnitt. Zu den Versuchen, die in dieser Richtung angestellt wurden, gehe ich daher jetzt über.

Unsere zweite Annahme lautete, daß es sich bei den partiellen Gerinnungen um einen durch hemmende Einflüsse bedingten Gleichgewichtszustand handeln könnte. Für diese Hemmung ließen sich zwei Ursachen anführen: entweder fällt dem Gerinnsel als solchem die hemmende Rolle zu, oder es mögen lösliche Bestandteile eine ähnliche Wirkung ausüben. Das Gerinnsel wiederum könnte an und für sich auf eine nicht näher bekannte Weise hemmend wirken oder durch Adsorption des noch überschüssigen Thrombins den Gerinnungsprozeß hintanhalten: ersteres ließe sich einfach durch Entfernung des Gerinnsels feststellen, letzteres könnte durch spezielle Prüfung des entfernten Gerinnsels auf ev. Thrombingehalt aufgeklärt werden.

Wenn wir auf die erste Möglichkeit hin die folgende Tabelle VII zu Rate ziehen, so sehen wir in drei parallelen Reihen nach 24 Stunden einen gleichmäßigen Gerinnungsprozeß, der im Laufe weiterer 24 Stunden langsam fortschritt (Kolonne 2) und in der 7. Verdünnung ($^1/_{64}$) aus der partiellen Gerinnung den Grad einer kompletten erreichte, während die 9. Verdünnung nunmehr ein deutliches Gerinnsel zeigte. Wir sehen, daß in den großen Verdünnungen der Ablauf der Reaktion einen längeren Zeitraum beansprucht. Diese Tatsache müssen wir im Auge behalten, um der Entfernung des Gerinnsels nicht einen Einfluß zuzuschreiben, der dem langsamen Verlaufe des Gerinnungsprozesses in großen Verdünnungen normalerweise (bei Eisschranktemperatur) entspricht. Nach Verlauf von 2 × 24 Stunden wurde die erste von den drei Reihen unverändert gelassen, in der zweiten aber wurden die Gerinnsel aufgeschüttelt und entfernt. In den ersten Verdünnungen mit kompletter Gerinnung erwiesen sich die Gerinnsel als kompakte Klumpen, die zwar in Retraktion begriffen waren, dennoch aber nur nach angestrengtem Schütteln in fibrinös-gelatinöse Klümpchen zerfielen und nur wenig Flüssigkeit ausschieden, während in den größeren Verdünnungen

der erstarrte Inhalt auch zwar eine komplette Gerinnung vortäuschen konnte, beim Schütteln aber mit steigender Verdünnung sich immer leichter in einen flüssigen Teil und eine allmählich in der Größe abnehmende Fibrinflocke trennen ließ.

Tabelle VII.

Versuch vom 2. bis 7. VIII.

Kolonne			1			2			3				4	
Im Eisschrank nach			1 × 24 St., am 3. VIII.			2 × 24 St., am 4. VIII.			3 × 24 St., am 5. VIII.				4 und 5 × 24 St., am 7. VIII.	
Nr. des Reagensglases	Serum 38 in absteigenden Mengen	$MgSO_4$-Plasma 14 verdünnt 1 : 8	Drei parallele Reihen			Dieselben drei Reihen unverändert zur Nachgerinnung			unverändert zur Nachgerinnung	Gerinnsel entfernt zur Nachgerinnung	Gerinnsel entfernt, dialysiert, zur Nachgerinnung	Isolierte Gerinnsel in je 1 ccm NaCl + je 2 ccm Plasma (1:8)	Gerinnsel entfernt zur Nachgerinnung	Gerinnsel entfernt + je 2 ccm Plasma (1:8)
		ccm	I	II	III	I	II	III	I	II	III	IV	I	II
1	1	2	+++	++	++	++	++	++	++	–	–	++	–	+++
2	1/2	2	+++	+++	+++	++	++	++	++	–	–	+++	–	++
3	1/4	2	+++	+++	+++	+++	++(+)	++(+)	++	–	–	–	–	++
4	1/8	2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	–	–	+	–	+
5	1/16	2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	±	+	–	–	±
6	1/32	2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	–	–	–
7	1/64	2	++	++	++	+++	+++	+++	+++	++	++	–	–	–
8	1/128	2	+	+	+	+	+	+	+	+	++	–	–	–
9	1/256	2	–	–	–	+	+	+	+	–	++	–	+	±
Kontr.	1 ccm NaCl	2	–			–			–			–	–	–

In der ersten unveränderten Reihe bemerken wir nach 3 × 24 Stunden (Kolonne 3, I) keinen Unterschied mit den früheren Befunden (Kolonne 2, I), während die zweite Reihe von der fünften Verdünnung an kein Gerinnsel aufweist (Kolonne 3, II). Man erhält den Eindruck, daß in den Proben der II. Reihe mit partieller Gerinnung dank der Entfernung der primären Gerinnsel der Gerinnungsprozeß einen neuen Anstoß erhalten und dadurch zu den sekundären Gerinnseln geführt hätte, während die Proben der I. Reihe anscheinend auf derselben Gerinnungsstufe stehen geblieben wären. Doch lehrt die weitere Beobachtung, daß in der ersten Reihe der Gerinnungsprozeß auch in Gegenwart der alten Gerinnsel fortgeschritten sein mußte, daß aber die feineren Differenzen der hinzugekommenen Nachgerinnung durch die primären Gerinnsel verdeckt worden

waren. Denn als nach Verlauf von 3×24 Stunden in der I. Reihe die Gerinnsel entfernt wurden, trat keine neue Gerinnung mehr auf (Kolonne 4, I): der Prozeß war schon vorher, entsprechend Kolonne 3, abgelaufen. Gegen den Einwand, daß der negative Ausfall der Nachgerinnung in Kolonne 4, I vielleicht durch Inaktivation des „Fibrinfermentes" im Laufe der geraumen Beobachtungszeit (5×24 Stunden) bedingt sei, kann man die Befunde in Kolonne 4, II anführen, wo durch Zusatz frischer Fibrinogenlösung sich noch freie, wirksame Thrombinmengen nachweisen ließen.

Der Zeitraum, in dem der Gerinnungsprozeß als endgültig abgelaufen betrachtet werden konnte, war in den meisten Fällen viel kürzer als in Tabelle VII, und entsprach bei der Eisschranktemperatur einer Frist von 2×24 Stunden (siehe Tabelle VIII, Kolonne 1 und 2).

Die Anwesenheit des Gerinnsels in einer Probe mit partieller Gerinnung übt also keinen hemmenden Einfluß auf die Nachgerinnung aus, und umgekehrt ruft die Entfernung des Gerinnsels keinerlei Beschleunigung hervor, nur wird dadurch der Prozeß der Nachgerinnung deutlicher, demonstrativer, während in Gegenwart der alten Gerinnsel die feineren Grade der noch hinzukommenden Gerinnung leicht übersehen werden können.

Es bleibt noch die Frage offen, ob nicht in manchen Fällen die partiellen Gerinnungen dadurch bedingt würden, daß das unter Mitwirkung des Thrombins gebildete Fibrin gewisse Mengen des Thrombins an sich reiße, dieselben adsorbiere und auf diese Weise ein Fortschreiten des Gerinnungsprozesses verzögere oder behindere. Die Adsorptionsfähigkeit des Fibrins verschiedenen Fermenten (wie dem Pepsin) gegenüber wird auch für das Thrombin angenommen [Morawitz[1])[2])]. Zur Aufklärung dieser Frage wurden die aus den entsprechenden Proben isolierten Gerinnsel mit je 1 ccm Kochsalzlösung, die

[1]) P. Morawitz, Die Gerinnung des Blutes. Oppenheimers Handb. d. Biochem. 2, 2. Hälfte, 40, 1909.

[2]) Nach den Angaben Howells (cit. n. Morawitz, Nr. 1), der aus gründlich ausgewaschenen und gekneteten Fibrinmengen durch Extraktion mittels 8%iger NaCl-Lösung noch sehr wirksame Thrombinpräparate erzielte, muß die Adsorption eine recht bedeutende und zugleich feste sein.

den vermeintlichen Thrombingehalt auslaugen sollte, versetzt und diesen Proben dann gleiche Mengen einer Fibrinogenlösung zugegeben. Neben der Reihe mit den isolierten Gerinnseln werden zugleich noch zwei Reihen mit der überschüssigen Flüssigkeit beobachtet: die eine sollte die ev. erfolgende Nachgerinnung demonstrieren, die andere wurde durch neuen Fibrinogenzusatz auf ihren Thrombinüberschuß geprüft. So sehen wir in Tabelle VII, Kolonne 3, II und IV und Kolonne 4, II die entsprechenden drei Reihen gegenübergestellt. Die isolierten Gerinnsel ergeben vom 5. bis zum 9. Röhrchen negative Resultate, während in Kolonne 3, II dieselben Röhrchen deutliche Nachgerinnung zeigen: also konnte das Thrombin nicht in wesentlichen Mengen von den Gerinnseln adsorbiert gewesen sein, wenn es gerade nach ihrer Entfernung noch in Wirkung trat. In den Röhrchen 1 bis 4 (Kolonne 3, IV) war eine dem Grade nach regellose Gerinnung aufgetreten: das waren die Proben mit kompletter Gerinnung, die sich schwer aufschütteln ließen und aus denen die Gerinnsel nur in Gestalt gelatinöser Klumpen mit größerem Gehalt an flüssigen Teilen entfernt werden konnten. Je nach der Menge der mitübertragenen Flüssigkeit war die erreichte Gerinnungsstufe eine größere oder kleinere oder die Gerinnung fiel, wenn es der Zufall wollte, auch ganz aus (Kolonne 3, IV, Röhrchen 3); dagegen zeigt die Prüfung der freien Flüssigkeit (ohne Gerinnsel) auf ihren Thrombingehalt gerade in diesen Röhrchen (1 bis 4) eine regelrechte, ausgiebige Gerinnung (Kolonne 4, II). In den Gerinnseln läßt sich somit kein erheblicher Thrombingehalt nachweisen.

Aus diesen Überlegungen und Versuchen ziehen wir den Schluß, daß die partiellen Gerinnungen, die unter sonst gleichen Bedingungen bei Versuchsreihen mit absteigenden Thrombinmengen beobachtet werden, weder auf eine hemmende Wirkung des gebildeten Gerinnsels an und für sich zurückzuführen seien, noch auf der bekannten thrombinadsorbierenden Fähigkeit desselben beruhen (vgl. auch Tabelle VIII, Kolonne 2, III).

Nach Ausschluß des Gerinnsels erübrigte es sich noch, nach löslichen Umsatzprodukten, die auf die Gerinnung einen hemmenden Einfluß ausüben könnten, zu forschen. In dieser

Hinsicht wurde der Versuch, gemacht durch Dialyse[1]) die ev. Hemmungskörper zu entfernen und auf diese Weise eine Beschleunigung oder Verstärkung der Nachgerinnung zu erzielen. Wie unter anderen Versuchen auch die Tabellen VII, Kolonne 3, III und VIII, Kolonne 2, II lehren, wurde diese Absicht nicht erreicht: ein dialysierbarer Hemmungskörper ließ sich nicht feststellen.

Wenn wir die bisherigen Ergebnisse zusammenfassen, so können wir kurz sagen: die partiellen Gerinnungen, die in Versuchsreihen mit gleichbleibenden Fibrinogen- und abfallenden Thrombinmengen beobachtet werden, finden vom Standpunkte der fermentativen Gerinnungslehre keine genügende Erklärung weder durch die Annahme eines Gleichgewichtszustandes, noch in der Annahme einer übermäßigen Verdünnung des Thrombins.

Somit war nur der Weg gewiesen, der anderen Vorstellung vom Gerinnungsvorgange nachzugehen.

2. Das quantitative Verhältnis zwischen Fibrinogen und Thrombin.

Die quantitativen Beziehungen zwischen beiden die Gerinnung bedingenden Faktoren, zwischen Fibrinogen und Thrombin, bildeten nun den Gegenstand der weiteren Untersuchungen. Wie wir schon aus Tabelle VII und VIII ersahen, läßt sich nach einem bestimmten Zeitraume ein Moment erreichen, wo der Gerinnungsprozeß auch in den größten Verdünnungen des Thrombins als abgelaufen betrachtet werden kann: die Proben ergeben bei weiterem Stehen keine neuen Gerinnsel. Nun fragt es sich, wie sich die beiden von uns anfänglich eingeführten Bestandteile in der nach Entfernung der Gerinnsel übriggebliebenen Flüssigkeit zueinander verhalten: ob sie beide aufgebraucht sind oder ob beide oder nur eines von ihnen in der Flüssigkeit noch vorzufinden ist? Vom fermentativen Standpunkte aus müßten wir einen vollständigen Aufbrauch de

[1]) Zu diesem Zwecke wurden die Röhrchen mit einem Gummireifen umgeben, darüber eine feuchte Pergamentmembran luftdicht darüber gespannt und gegen eine isotonische Salzlösung dialysiert. Die Membran wurde auf Eiweißdichtigkeit geprüft.

Fibrinogens erwarten, während das Thrombin als Ferment in seiner Wirksamkeit erhalten geblieben sein müßte. Ein neuer Fibrinogenzusatz müßte uns also ein ähnliches Bild wie bei der primären Gerinnung ergeben. Statt dessen finden wir (Tabelle VII, Kolonne 4, II) Beziehungen vor, die direkt als quantitatives Verhältnis imponieren. 2 ccm meiner Fibrinogenlösung wurden nach Verlauf von 48 Stunden vollkommen durch $^1/_8$ ccm Thrombin in Fibrin umgewandelt, während $^1/_{16}$ ccm Thrombin gerade noch knapp dazu ausreichte. Die weiteren Verdünnungen brauchten noch 24 Stunden zur Nachgerinnung, um die Reaktion bis zu Ende zu führen. Der neue Fibrinogenzusatz zeigte nun, daß in den Proben mit dem langsamen Gerinnungsverlauf der ganze Thrombingehalt aufgebraucht worden war, während bei $^1/_{16}$ ccm sich noch Spuren desselben vorfanden und in den nächsten Proben mit steigender Thrombinkonzentration die überschüssigen Thrombinmengen ebenfalls anwuchsen. In Zahlen ausgedrückt würden sich diese Verhältnisse etwa folgendermaßen gestalten (vgl. Tabelle VII, II in Kolonne 2, 3, 4):

Der Thrombinüberschuß bis $^1/_{32}$ = 0,
„ „ bei $^1/_{16}$ = Spuren,
„ „ „ $^1/_8$ = ca. $^1/_{16}$ (1 Teil),
„ „ „ $^1/_4$ = „ $^3/_{16}$ (3 Teile),
„ „ „ $^1/_2$ = „ $^7/_{16}$ (7 „),
„ „ „ 1 = „ $^{15}/_{16}$ (15 „).

Während dieser Versuch uns mit voller Deutlichkeit über den Verbrauch des Thrombins belehrt, können wir aus Tabelle VIII das quantitative Verhalten des Fibrinogens erkennen. Nach 2×24 Stunden war hier der Gerinnungsprozeß abgelaufen. Ein neuer Thrombinzusatz bewies nun, daß das Ende der Reaktion in den großen Verdünnungen keineswegs durch den Aufbrauch des Fibrinogens, sondern im Gegenteil durch den Mangel an Thrombin bedingt war. $^1/_{32}$ ccm Thrombin genügte gerade noch, um 2 ccm der Fibrinogenlösung in Fibrin umzusetzen, während die kleineren Thrombinmengen entsprechend kleinere Mengen der Fibrinogenlösung angegriffen hatten; $^1/_{256}$ ccm Thrombin war im Vergleiche mit der Kontrolle (die reine Fibrinogenlösung enthielt) überhaupt un-

wirksam geblieben. In Zahlen ausgedrückt erhalten wir folgende Werte:

$^1/_{32}$ ccm Thrombin setzen 2 ccm Fibrinogen um, Überschuß an Fibrinogen = 0,

$^1/_{64}$ ccm Thrombin setzen 1 ccm Fibrinogen um, Überschuß an Fibrinogen = 1 ccm,

$^1/_{128}$ ccm Thrombin setzen $^1/_2$ ccm Fibrinogen um, Überschuß an Fibrinogen = $1^1/_2$ ccm,

$^1/_{256}$ ccm Thrombin setzen 0 ccm Fibrinogen um, Überschuß an Fibrinogen = 2 ccm,

d. h. bei einer Verminderung der Thrombinmenge um die Hälfte fallen die umgesetzten Fibrinogenmengen in geometrischer Progression mit dem Multiplikator „$^1/_2$".

Tabelle VIII.

Versuch vom 5. bis 9. VIII. 1911.

Kolonne			1		2			3
Im Eisschrank nach			1 u. 2×24 St., am 7. VIII.		3×24 St., am 8. VIII.			4×24 St., am 9. VIII.
Nr. des Reagensglases	Serum 39 in absteigenden Mengen	$MgSO_4$-Plasma 15 verdünnt 1:8	Zwei parallele Reihen		Gerinnsel entfernt zur Nachgerinnung	Gerinnsel entfernt, dialysiert zur Nachgerinnung	Isolierte Gerinnsel in je 1 ccm NaCl + je 2 ccm Plasma (1:8)	Ohne Gerinnsel + je 1 ccm Serum 40 (verd. 1:1,5), NB. auch zu Kontr.
		ccm	I	II	I	II	III	I
1	1	2	+++	++	–	–	–	–
2	$^1/_2$	2	+++	+++	–	–	–	–
3	$^1/_4$	2	+++	+++	–	–	–	–
4	$^1/_8$	2	+++	+++	–	–	–	–
5	$^1/_{16}$	2	+++	+++	–	–	–	–
6	$^1/_{32}$	2	+++	+++	–	–	–	–
7	$^1/_{64}$	2	++	++	–	–	–	+
8	$^1/_{128}$	2	+	+	–	–	–	++
9	$^1/_{256}$	2	±	–	–	–	–	++(+)
Kontr.	1 ccm NaCl	2	–		–		–	++(+)

Die quantitativen Beziehungen zwischen Fibrinogen und Thrombin wurden einer weiteren Prüfung unterzogen derart, daß nun Versuchsreihen mit absteigenden Fibrinogenmengen[1]) und gleichbleibenden Thrombinmengen hergestellt wurden.

[1]) Wohlgemuth hat seine Reihenmethode auch zur quantitativen Bestimmung des Fibrinogens ausgearbeitet.

Die Versuchsreihen kamen auch hier in den Eisschrank; nach 24 Stunden zeigte sich hier (s. Tabelle IX, Kolonne 1) die Eigentümlichkeit, daß die erste konzentrierte Fibrinogenlösung nur partielle Gerinnung aufwies und nur die zweite oder dritte Verdünnung den Höhepunkt der kompletten Gerinnung erreichte. Da die absteigenden Fibrinogenreihen mit dem 28%igen $MgSO_4$-Plasma begonnen wurden, so mußte bei dieser Konzentration das Thrombin in seiner Wirkung beeinträchtigt werden; doch wurde die Wirkung nicht ganz aufgehoben, sondern nur verzögert, da nach Entfernung der primären Gerinnsel aus allen Proben nur in den ersten Gläsern Nachgerinnung auftrat, während sie in den übrigen Röhrchen fortblieb (Tabelle IX, Kolonne 3). Obgleich der Gerinnungsprozeß nach 24 Stunden als abgelaufen betrachtet werden konnte, blieben die partiellen Gerinnungen auf den einmal erreichten Stufen stehen. In diesem Falle widersprechen die partiellen Gerinnungen nicht der fermentativen Anschauung, da ihr zufolge das Fibrin nur vom Fibrinogen, ohne „materielle" Beteiligung des Thrombins, geliefert werden soll und daher mit absteigenden Fibrinogenmengen natürlich auch die Fibrinmengen fallen müssen; der Thrombingehalt dagegen müßte in allen Proben der gleiche bleiben.

Tabelle IX.

Versuch vom 22. bis 25. VII. 1911.

Im Eisschrank nach			2 × 24 St., am 24. VII.		3 × 24 St., am 25. VII.					
Kolonne			1		2		3		4	
Nummer des Reagensglases	Schmidts Thrombinlösung, verdünnt 1:15	$MgSO_4$-Plasma in absteigenden Mengen	Zwei Reihen hergestellt mit Thrombinlösung Nr. 4		Isolierte Gerinnsel in je 1 ccm NaCl + 2 ccm Plasma (1:8)		Gerinnsel entfernt, zur Nachgerinnung		Gerinnsel entfernt, + je 2 ccm Plasma (1:8)	
			I	II	I	II	I	II	I	II
1	1 ccm	1	+	+	−	−	−	+	−	+
2	1 „	1/2	++	+++	−	−	+	−	+	−
3	1 „	1/4	+++	+++	−	−	−	−	±	±
4	1 „	1/8	++	+++	−	−	−	−	+	+
5	1 „	1/16	++	++	−	−	−	−	++	+
6	1 „	1/32	++	++	±	−	−	−	++	++
7	1 „	1/64	+	++	+	−	−	−	++	++
8	1 „	1/128	+	+	+	−	−	−	++	++
9	1 „	1/256	±	±	+	−	−	−	++	++
Kontrolle	1 ccm NaCl	1 ccm	−	−	−	−	−	−	−	−

Über das Verhalten der Thrombinmengen belehrt uns Kolonne 4 in Tabelle IX, wo die Resultate nach Zusatz neuer Fibrinogenmengen zu der von den Gerinnseln befreiten Flüssigkeit wiedergegeben sind: das Thrombin erweist sich als

aufgebraucht entsprechend den umgesetzten Fibrinmengen, d. h. der Thrombinverbrauch steht in direktem quantitativen Verhältnis zu den anfänglichen Fibrinogenmengen. Stellen wir Kolonne 4 und 1 der Tabelle IX einander gegenüber, so können wir folgende Berechnung machen: als Ausgangspunkt kann das Reagensglas 3 dienen, in dem $^1/_4$ ccm Fibrinogen zur Umsetzung in Fibrin rund 1 ccm der Schmidtschen Thrombinlösung aufbrauchte; dementsprechend führt ein neuer Fibrinogenzusatz zu dieser Probe nur zu Spuren einer Gerinnung. Gehen wir vom Glase 3 nach unten, so sehen wir mit fallenden Fibrinogenmengen ($^1/_8$, $^1/_{16}$) den Thrombinüberschuß anwachsen und dementsprechend bei neuem Zusatz von Fibrinogen eine stärkere Gerinnung ergeben, die in Anbetracht der geringen Fibrinogenmengen in den letzten Gläsern (6 bis 9) und des geringen primären Thrombinverbrauchs nunmehr hier fast den gleichen Grad erreicht. Gehen wir vom Glase 3 nach oben, so finden wir zwar auch zu je einem deutliche Gerinnsel in jeder Reihe, doch können diese Gerinnsel hier nicht als Indicator für den eventuellen Thrombinüberschuß dienen. Es handelt sich um Erscheinungen der Nachgerinnung, die durch das konzentrierte $MgSO_4$-Plasma in diesen Proben verzögert war; das beweisen die Kontrollreihen in Kolonne 3, die genau in den entsprechenden Gläsern auch spontan, ohne neuen Fibrinogenzusatz, genau denselben Gerinnungsgrad ergaben.

Bei Beurteilung der quantitativen Beziehungen, die wir soeben zwischen Fibrinogen und Thrombin feststellen konnten, muß noch die Frage der Adsorption der freien Thrombinmengen durch das gebildete Fibringerinnsel berücksichtigt werden. Da die Thrombinverluste mit der Größe des Fibrinkoagulums zunahmen, so wäre eine Erklärung dieser Verluste durch Adsorption wohl denkbar. Eine Untersuchung der isolierten Gerinnsel auf ihren eventuellen Thrombingehalt ergab jedoch hier, wie auch früher, ein negatives Resultat. Die Gerinnsel, die in Reihe I neu entstanden waren, entsprachen gerade den Gläsern mit den kleinsten Fibrinogenmengen, in deren freier Flüssigkeit ein Thrombinüberschuß nachgewiesen werden konnte (Kolonne 4, I), so daß diese Gerinnung nur auf Kosten der mitübertragenen Flüssigkeit kommt.

Während auf Grund solcher Versuche wie des eben angeführten die nach der primären Gerinnung überschüssigen Thrombinmengen nachgewiesen werden konnten, finden wir in anderen Versuchen, wie jener auf Tabelle X, auch Aufklärung

über den Fibrinogenverbrauch. Zwei parallele Reihen ergaben hier nach 24 Stunden annähernd gleiche Resultate; nach Entfernung der Gerinnsel, die auch hier auf mögliche Thrombinadsorption mit negativem Erfolge untersucht wurden (Kolonne 2, III), erhielt die eine Reihe neuen Fibrinogen-, die andere neuen Thrombinzusatz. Besonders anschaulich ist die Gegenüberstellung der Kolonne 2, I und II mit Kolonne 3, II:

Tabelle X.

Versuch vom 8. bis 11. VIII. 1911.

Im Eisschrank nach			1 × 24 St., am 9. VIII.		2 × 24 St., am 10. VIII.			3 × 24 St., am 11 VIII.
Kolonne			1		2			3
Nummer des Reagensglases	Schmidts Thrombinlösung, verdünnt 1:20	$MgSO_4$-Plasma in absteigenden Mengen	Zwei Reihen hergestellt mit Thrombinlösung Nr. 3		Gerinnsel entfernt + je 1 ccm Plasma 15 (1:8)	Gerinnsel entfernt zur Nachgerinnung	Isolierte Gerinnsel in je 1 ccm NaCl + je 1 ccm Plasma (1:8)	Gerinnsel entfernt + je 1 ccm Thrombin
			I	II	I	II	III	II
1	1 ccm	1	±	±	−	−		+++
2	1 „	1/2	++(+)	++(+)	±	±	+	++(+)
3	1 „	1/4	+++	+++	−	−	−	−
4	1 „	1/8	++	++	++	−	±	−
5	1 „	1/16	+	++	+++	−	−	−
6	1 „	1/32	+	++	+++	−	−	−
7	1 „	1/64	+	++	+++	−	+	−
8	1 „	1/128	+	+	+++	−	−	−
9	1 „	1/256	±	±	+++	−	−	−
Kontrolle	1 ccm NaCl	1 ccm	−	−	−	−	−	−

erstens ersehen wir, daß nach 24 Stunden der Gerinnungsprozeß abgelaufen sein mußte, da keine Nachgerinnung mehr auftrat (Kolonne 2, II); zweitens konstatieren wir, daß im Glase 3 das gegenseitige quantitative Verhältnis der beiden Gerinnungsfaktoren ein derartiges war, daß sie sich restlos aufbrauchten (vgl. Kolonnen 1, 2 und 3); drittens können wir die quantitative Beteiligung beider Faktoren am Gerinnungsprozesse in den übrigen Gläsern bei veränderten Mengenverhältnissen verfolgen. So sehen wir, daß mit fallenden Fibrinogenmengen (von 1/4 bis 1/256 ccm) der Thrombinüberschuß wächst, bei ansteigenden Fibrinogenmengen (von 1/4 bis 1) der Aufbrauch des Thrombins ein vollständiger ist (Kolonne 2, I);

die Spuren von Gerinnung im Glase 2 kommen auf Kosten der Nachgerinnung (vgl. Kolonne 2, I mit II). Umgekehrt können wir für das Fibrinogen bei absteigenden Mengen desselben einen vollständigen Aufbrauch durch 1 ccm Thrombin feststellen (Kolonne 3, II, von $^1/_4$ bis $^1/_{256}$ ccm), während von $^1/_4$ ccm hinauf ein wachsender Überschuß an Fibrinogen vorzufinden ist. Letzterer Umstand ist besonders bedeutsam, da wir vom fermentativen Standpunkte aus bei den großen Thrombinmengen (1 ccm) zum mindesten einen Aufbrauch der ganzen Fibrinogenmenge voraussetzen müßten.

3. Schlußbetrachtung.

In Verbindung mit den gefundenen Tatsachen, die in eindeutiger Weise für quantitative Beziehungen zwischen beiden bei der Gerinnung ausschlaggebenden Faktoren, dem Thrombin und dem Fibrinogen, sprechen, erscheint eine kurze Übersicht derjenigen Punkte, die für die fermentative Natur des Thrombins resp. „Fibrinferments" geltend gemacht werden, zweckmäßig.

Die Feststellung einer quantitativen Beteiligung des Thrombins am Gerinnungsvorgange — derart, daß bei genügender Fibrinogenmenge das Thrombin sogar vollständig aufgebraucht wird — bildet einen Hauptbeweis gegen die fermentative Natur des Thrombins. Die Kardinaleigenschaft fermentativer Substanzen — im Verhältnis zur eigenen Quantität überaus große Mengen irgendeines Substrates verwandeln zu können, ohne selbst im Verlauf der Reaktion merklich an Wirksamkeit zu verlieren — wird hierdurch getroffen.

Ähnliche quantitative Beziehungen konnten auch Arthus[1]) und Rettger[2]) feststellen. Arthus konstatierte in Reihen mit absteigenden Thrombinmengen, daß die totale oder partielle Gerinnung von der Menge des anwesenden Fibrinferments abhängt. Rettger macht auch auf die partiellen Gerinnungen,

---

[1]) M. Arthus, Un réactif quantitatif du Fibrinferment. Journ. de Physiol. et Pathol. 4, 1, 1902 oder Compt. rend. 53, 962, 1911.

[2]) L. Rettger, The Coagulation of Blood. Amer. Journ. of Physiol. 24, Nr. 4, S. 406, 1909.

die niemals weitergehen, aufmerksam: setzt man zu einer Fibrinogenlösung ganz kleine Thrombinmengen hinzu, so bleibt der Gerinnungsprozeß auf der Bildung eines kleinen Gerinnsels stehen; entfernt man das letztere nach 4 bis 24 Stunden, so bleibt der Rest der Fibrinogenlösung flüssig und klar, neue Gerinnsel erscheinen aber wieder bei Zusatz von weiteren Thrombinmengen. Die Ergebnisse von Wägungen, die Rettger an Fibringerinnseln unternahm, weisen ebenfalls auf eine quantitative Beteiligung des Thrombins an der Bildung des Fibrins hin; zu einer Fibrinogenlösung wurden zugesetzt

5	Tropfen	Thrombin,	die	0,2046 g	Fibrin	ergaben,
10	„	„	„	0,3573 g	„	„
20	„	„	„	0,6089 g	„	„
40	„	„	„	1,5872 g	„	„

d. h. also, daß nur so viel Fibrinogen zu Fibrin umgewandelt wird, als Thrombin vorhanden ist.

Die meisten Enzyme sollen ein Optimum ihrer Wirkung zwischen 35 bis 45° zeigen, während darunter ihre Aktivität schnell fällt, um bei 0° sehr gering zu sein, während bei höheren Temperaturen eine immer rapidere Zerstörung des Fermentes eintritt [C. Oppenheimer[1])].

Für das Thrombin gilt dieser Satz nur relativ. Einige von mir in dieser Richtung angestellte Versuche zeigten, daß die Gerinnungsgeschwindigkeit in weiten Temperaturgrenzen die gleiche bleiben kann (s. Tabelle XI). Wie bei fast 40°, so trat auch bei der nur halb so hohen Temperatur = 20° die Gerinnung gleichzeitig nach 5 Minuten auf, während eine bedeutende Temperaturerniedrigung bis 3 bis 4° eine zweifellose Verzögerung der Gerinnung (um das 5fache) nach sich zog. In einem anderen Falle war der Beginn der Gerinnung bei 3 bis 4° sogar um das 9fache im Verhältnis zur Brutofenprobe verzögert. Da diese Versuche von Anfang an eine Übereinstimmung mit Rettgers Angaben zeigten, so ging ich nicht näher auf diese Frage ein; es mögen hier Rettgers Ergebnisse zum Vergleiche folgen:

[1]) C. Oppenheimer, Die Fermente und ihre Wirkungen, 2. Aufl., Leipzig 1903.

Bei 1° komplette Gerinnung nach 2 Stunden,
„ 17° „ „ „ 28 Minuten,
„ 21° „ „ „ 28 „
„ 31° „ „ „ 27 „
„ 41° „ „ „ 29 „

Tabelle XI.

Versuche vom 2. und 3. VIII. 1911.

Zeitdauer	Lösung: Schmidtsche Thrombinlösung Nr. 3 zu je 2,5 ccm, $MgSO_4$-Plasma, verdünnt 1:8, zu je 5,0 ccm.					
	Brutofen Temp. = 39,3°		Thermostat Temp. = 20,0°		Temp. = 37,5°	Temp. = 3—4°
	Glas I	Glas II	Glas I	Glas II	1 Glas	1 Glas
5′	++	+++	+++	++	++	–
10′	++	+++	+++	++	++	–
15′	++	+++	+++	++	++	–
25′					++	++
30′					++	++
45′						
1h						
1h 30′					++	++
3h	++	+++	+++	++		

In weiten Temperaturgrenzen, also von 17 bis 41°, bleibt die Reaktionsgeschwindigkeit die gleiche, und nur bei bedeutender Temperaturerniedrigung macht sich eine Einwirkung derselben im Sinne einer Verzögerung geltend. Das Thrombin zeigt also kein ausgesprochenes Temperaturoptimum, sondern die Temperaturverhältnisse weisen eher auf eine komplizierte Reaktion nicht fermentativen Charakters hin. Für die Gerinnung genuinen Blutes haben diese Befunde keine Geltung: durch die Beteiligung zelliger Elemente am Gerinnungsvorgange erscheinen die Verhältnisse sehr verschieden gegenüber der Reaktion zwischen zusammengebrachten fertigen Gerinnungsfaktoren. Daher haben für die Gerinnungszeiten genuinen Blutes schon geringe Temperaturschwankungen eine große Bedeutung.

Was nun die angebliche Zerstörung der Fermente durch hohe Temperaturen betrifft, so ist die Tatsache, daß das Thrombin in wässerigen (NB. eiweißarmen) Lösungen nach Rettger sogar das Kochen verträgt, nicht absolut maßgebend für den Rückschluß auf seine Natur: heutzutage ist auch eine

Reihe von thermostabilen Fermenten bekannt[1]). Immerhin hat dieser Befund insofern eine Bedeutung, als die Thermolabilität des Thrombins nicht mehr als Beweis für seine fermentative Natur angeführt werden kann.

Als wichtigstes Argument für die fermentative Natur des Gerinnungsvorganges gilt auch das Zeitgesetz. Das Zeitgesetz des Thrombins, das neben mancher Ähnlichkeit mit fermentativen Zeitregeln doch eine bestimmte Eigenart behauptet (vgl. Tabellen II bis VII und den entsprechenden Text auf S. 190), zwingt jedenfalls zu großer Vorsicht bei Beurteilung der eigentlichen Natur des Thrombins und wird wohl auch in Zukunft der Lösung dieser Frage manche Schwierigkeiten entgegensetzen. Gegenwärtig können wir nur auf einige Unterschiede, die zwischen dem Thrombin und den fermentativen Substanzen auch in dieser Hinsicht bestehen, aufmerksam machen. So gilt das Zeitgesetz beim Thrombin nur für größere Konzentrationen, während bei anderen Fermenten, wie beim Pepsin, die Schützsche Regel umgekehrt für geringere Konzentrationen in Betracht kommt (Fuld). Dann erlahmt die Wirksamkeit des Thrombins bei absteigenden Mengen unverhältnismäßig rasch, viel schneller, als man dem Grade der Verdünnung nach erwarten könnte. Als Folge der Unwirksamkeit treten partielle Gerinnungen auf oder die Gerinnung bleibt auch ganz aus. Da von einer übermäßigen Verdünnung des Thrombins als Grund der Unwirksamkeit nicht die Rede sein kann, außerdem die partiellen Gerinnungen nach Verlauf einer bestimmten Frist kein weiteres Fortschreiten des Gerinnungsprozesses zeigen, so würde vom fermentativen Standpunkte aus nur in einem durch hemmende Einflüsse bedingten Gleichgewichtszustande eine Erklärung gegeben sein. Doch konnten weder im Gerinnsel noch in löslichen dialysablen Umsatzprodukten die gesuchten Hemmungskörper gefunden werden. Zugleich deckten aber direkte diesbezügliche Versuche eine quantitative Beteiligung beider Gerinnungsfaktoren an der Fibrinbildung auf.

---

[1]) So konnte Mesernitzky im Micrococcus prodigiosus und in dessen Kulturflüssigkeiten ein Gelatine verflüssigendes Enzym (Gelatinase), das gegen die Siedetemperatur in hohem Maße unempfindlich ist, nachweisen. (Vgl. P. Mesernitzky, Über die Zersetzung der Gelatine durch Micrococcus prodigiosus. Diese Zeitschr. 29, 104, 1910.)

Als bedeutungsvoll für die „Fermentchemie" bezeichnet Samuely[1]) die Spezifität der Fermente. Wenn auch dem Thrombin von manchen Seiten spezifische Eigenschaften zugeschrieben werden [Fuld[2])], so ist die Spezifität an sich nicht maßgebend, um daraus Rückschlüsse auf die Natur des Thrombins zu ziehen. Dazu sind unsere Kenntnisse über das Wesen der „spezifischen" Körper, wie sie ja auch in der Immunitätslehre eine so große Rolle spielen, viel zu lückenhaft und unsicher.

Soweit man heute die Verhältnisse überblicken kann, läßt sich der Gerinnungsprozeß mit einiger Bestimmtheit nur negativ auf seine Natur hin charakterisieren, und zwar als eine nicht fermentative Reaktion. Ob es sich hierbei um eine gegenseitige Fällung von Kolloiden (Nolf, Howell) oder andere physikalische Vorgänge handeln mag, oder ob auch chemische Reaktionen im Sinne z. B. spezifischer Affinitätsverhältnisse eine Rolle spielen — das sind Fragen, die noch ihrer Lösung harren. Doch erscheint es wahrscheinlich, daß das Wesen des Gerinnungsvorganges durch die einzelnen genannten Möglichkeiten nicht erschöpft wird und daß die Verhältnisse insofern noch komplizierter liegen, als bei der Gerinnung vielleicht mehrere Reaktionen gleichzeitig oder nacheinander verlaufen. Zu diesem Schlusse berechtigen z. B. solche Tatsachen wie die besprochenen Temperaturverhältnisse, das eigenartige Zeitgesetz, daneben die quantitativen Beziehungen des Thrombins — Tatsachen, die schon bei einer künstlichen Versuchsanordnung in vitro mit möglichst einfachen Gerinnungsfaktoren zum Vorschein kamen. Um wieviel verwickelter müssen die Verhältnisse im lebenden Organismus liegen, wo in Gegenwart lebendiger, reaktionsfähiger Zellen — im Blute und in den verschiedenen Organen — die subtilen Beziehungen von Wirkung und Gegenwirkung sich im vollen Umfange abspielen können.

---

[1]) F. Samuely, Tierische Fermente. Oppenheimers Handb. der Biochem. 1, 501, 1909.

[2]) E. Fuld, Über das Zeitgesetz des Fibrinferments. Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 2, 514, 1902.

Veränderungen der Blutgerinnung durch Blutverluste

Von

Heinrich Stromberg (St. Petersburg).

(Aus der medizinischen Poliklinik der Universität Freiburg i. Br.)

(Eingegangen am 10. Oktober 1911.)

Mit 5 Figuren im Text.

Die Frage nach den Beziehungen der Gerinnungszeit zu Blutverlusten ist schon mehrfach Gegenstand von experimentellen und klinischen Untersuchungen gewesen. Die Ergebnisse, zu denen verschiedene Forscher kamen, sind nicht ganz eindeutig. Einige Autoren fanden nach einmaligem größeren Blutverluste oder bei wiederholten, sukzessiven Hämorrhagien als Regel ständig eine der verlorenen Blutmenge entsprechende Erhöhung der Gerinnungsfähigkeit des Blutes; andere Beobachter dagegen beschreiben wieder ein mehr regelloses Verhalten der Gerinnbarkeit des Blutes. Eine Prüfung dieser Frage erschien daher wünschenswert. Mit ihr sind die physiologischen Vorstellungen eines Selbstschutzes des Organismus, der durch eine Gerinnungsbeschleunigung gegen den Blutverlust ankämpfen will, verbunden; dann aber kommt dieser Frage auch eine praktische Bedeutung zu, insofern, als eine willkürliche Beeinflussung der Gerinnungsfähigkeit des Blutes für den Arzt große Bedeutung gewinnen könnte.

Bei der Entscheidung der aufgeworfenen Frage spielt die technische Seite der ganzen Versuchsanordnung eine hervorragende Rolle, da mit ihr eine ganze Reihe Versuchsfehler, die an und für sich zu einer falschen Deutung der erhaltenen Resultate führen können, verknüpft ist. Die Hauptpunkte, die in technischer Hinsicht eine besondere Sorgfalt verlangen, sind folgende: erstens muß die Möglichkeit einer Beimengung

auch von kleinsten Spuren Gewebssaftes, der durch den Gehalt an Thrombokinase eine künstliche Beschleunigung der Blutgerinnung hervorrufen könnte, vermieden werden; zweitens muß die Blutentnahme unter möglichster Verhütung eines Fremdkörperreizes auf die zelligen Elemente des Blutes erfolgen, die in solchem Falle wiederum beschleunigt die gerinnungsbefördernden Substanzen (Thrombogen, Thrombokinase) abgeben würden. Um letzterer Anforderung gerecht zu werden, ging Arthus[1]) z. B. sogar so weit, daß er zu jeder Blutentnahme eine neue Kanüle in eine stets neue Arterie (Carotiden, Art. femoralis, subclaviae — nach der Reihe) einband, um, wie er sagt, dem Einwand zu begegnen, als könnte die Beschleunigung der Gerinnung durch die alterierten Zellelemente des Blutes, die mit der zuerst eingebundenen Kanüle in Berührung gekommen waren, bedingt sein. Doch findet Arthus selbst diesen Einwand „hypothetisch", wenn man vor der zweiten Entnahme stets einige Kubikzentimeter Blut, die sich in der Nachbarschaft der Artienwunde befunden hatten, erst abfließen läßt.

Wenn ich den von Arthus angegebenen, gewiß sehr exakten Weg der Verwendung eines stets neuen Blutgefäßes für jede Blutentnahme nicht wählte, so geschah das aus verschiedenen Gründen. Erstens dienten mir als Versuchstiere nicht Hunde, wie Arthus, sondern Kaninchen, bei denen die entsprechenden Blutgefäße, ausgenommen die Carotiden, weniger bequem zu Blutentnahmen gewesen wären; zweitens war zum Zwecke einer möglichst vollständigen Ausblutung des Tieres ein neben der Exaktheit möglichst schonender Eingriff angezeigt. Die von mir gewählte Technik war darum folgende:

In Urethannarkose (1 bis 1,5 g pro 1 kg Gewicht) wurde das Kaninchen auf das Brett gespannt, zwischen Wärmekästen (40 bis 45°) gelegt und je nach der Versuchsanordnung eine der Carotiden mehr oder weniger unter Vermeidung jeglicher Blutung oder, umgekehrt, bei absichtlich groß angelegten blutigen Wundflächen freigelegt. Die Arterie wurde möglichst schonend behandelt und, nach sorgfältiger Isolierung, ligiert. Etwas unterhalb (1,5 bis 2 cm) der Ligatur wurde eine nicht zu fest greifende Klemme angelegt und im Zwischenraum die Kanüle eingebunden. Die Kanülen waren alle aus Glas; damit eine Berührung des freien

[1]) Arthus, M., Sur la vitesse de la coagulation du sang des prises successives. Journ. de Physiol. et Pathol. 4, 273, 1902.

Kanülenendes mit der Wunde ausgeschlossen wäre, erhielten die Kanülen ein Ansatzstück, das genügend weit über die Wundränder hinaushing und ein ungestörtes Abfließen des Blutes gestattete. Um den Fremdkörperreiz in der Kanüle ad minimum zu reduzieren, wurden alle Kanülen, wie auch Ansatzstücke stets inwendig paraffiniert, das knopfartige Ende, das in die Arterie eingeführt wurde, erhielt auch außen einen dünnen Paraffinüberzug. Also erst das zur Aufnahme des Blutes und zu dessen Gerinnungsbestimmung bereitete Gefäß konnte den gerinnungsauslösenden Fremdkörperreiz bewirken. Vor jeder Entnahme ließ ich einige Kubikzentimeter Blut abfließen, um die Spuren von Gewebssaft (die von der für die Kanüle bestimmten Gefäßwunde herrühren mochten) und die durch die Abklemmung des Gefäßes alterierten Zellelemente hinwegzuspülen. Jede Kanüle wurde nur einmal gebraucht; zum Zwecke der zweiten Entnahme wurde das Gefäß eine Strecke weiter zentralwärts freigelegt, unterhalb der abgeklemmten Stelle ligiert und die Kanüle, wie oben beschrieben, eingebunden. Auf diese Weise konnten, wenn man hoch oben von der Teilungsstelle der Carotis anfing, 3 bis 4 Kanülen in das Gefäß der einen Seite bequem eingeführt werden. Bei den genannten Kautelen (paraffinierte Kanülen, jedesmaliges Abfließenlassen von Blut vor der Entnahme, einmaliger Gebrauch jeder Kanüle, Verwendung frischer Gefäßabschnitte zur Einführung neuer Kanülen, Isolierung des Gefäßes nur kurz vor Gebrauch) schien die derart angestellte Versuchsanordnung genügende Sicherheit vor Versuchsfehlern, die auf einer künstlichen Beeinflussung der Gerinnbarkeit des Blutes beruht hätten, zu bieten. Daß die länger andauernde Ligierung der Carotis, wie sie durch die Gerinnungsbestimmungen zwischen den einzelnen Blutentnahmen bedingt wurde, keinen besonderen Einfluß auf die Gerinnungsresultate haben konnte, geht aus dem bekannten Versuche hervor, demzufolge sogar nach beiderseitigem Abbinden und Ausschneiden der Jugularvene (z. B. eines Hundes) das in ihr enthaltene Blut im flüssigen Zustande erhalten bleibt (Nolf)[1]).

Die Gerinnungsbestimmungen wurden gleichzeitig nach zwei Methoden gemacht: erstens nach dem von Morawitz[2]) und Bierich[3]) angegebenen Verfahren, zweitens nach der Methode von Schultz[4]).

Im ersten Falle kamen Wiegegläschen in Anwendung; die Gläschen wurden so vorbereitet, daß sie nach Gebrauch ausgekocht, ge-

[1]) P. Nolf, Contribution à l'étude de la coagulation du sang. Arch. internat. de Physiol. 6, 1908.

[2]) P. Morawitz, Die Blutgerinnung. Handb. d. biochem. Arbeitsmethoden von Abderhalden. Berlin-Wien 1911.

[3]) P. Morawitz und R. Bierich, Über die Pathogenese der cholämischen Blutungen. Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 56, 1906.

[4]) W. Schultz, Eine neue Methode zur Bestimmung der GF. des Blutes. Berliner klin. Wochenschr. Nr. 12, 1910.

waschen, gut getrocknet, von anhaftenden Fasern befreit und schließlich mit Alkohol und Äther nacheinander ausgeschüttelt wurden. Über Nacht blieben sie offen unter einer Glasglocke stehen, damit die Ätherreste endgültig verdunsten konnten.

Im zweiten Falle wurden die „Hohlperlencapillaren" verwendet. Die Reinigung der Hohlperlencapillaren geschah auf die Weise, daß mit Hilfe einer Wasserstrahlpumpe durch die Röhrchen folgemäßig Wasser, Alkohol, Äther und schließlich ein Luftstrom, der die letzten Spuren von Feuchtigkeit mitreißen sollte, getrieben wurden. Über Nacht blieben die Hohlperlencapillaren, wie auch die Wiegegläschen, unter der Glasglocke zum endgültigen Verdunsten des Äthers.

Einige Zeit vor Beginn des Versuchs wurden die nötigen Wiegegläschen und Hohlperlencapillaren in einen Thermostaten, der auf 20° C reguliert war, gestellt, damit sie die gewünschte Temperatur annahmen. Als Thermostat diente mir eine mit Thermometer versehene feuchte Kammer, deren Glasdeckel durch eine kleinere, verschließbare Öffnung den Zutritt in das Innere gestattete. Diese feuchte Kammer stand ihrerseits in einem Behälter mit Wasser, dessen Temperatur im Laufe des ganzen Versuchs mit Leichtigkeit reguliert werden konnte, derart, daß sich im Innern der feuchten Kammer die Temperatur dauernd und konstant während mehrerer Stunden auf 20° C erhielt. Im Sommer, bei einer Zimmertemperatur von 27 bis 28° C, genügte es, in den äußeren auch mit Thermometer versehenen Wasserbehälter von Zeit zu Zeit Eisstückchen zu werfen, um seine Temperatur auf 13 bis 15° C herabzudrücken.

Zu jeder Gerinnungsbestimmung wurden ein oder gleichzeitig zwei Wiegegläschen und stets zwei parallele Hohlperlencapillaren verwendet; sie wurden nur mit Pinzetten angefaßt, um jede Temperaturänderung zu vermeiden. Nachdem einige Kubikzentimeter Blut aus der Kanüle abgeflossen waren, wurde das erste Wiegegläschen mit 5 ccm Blut gefüllt und sofort in den Thermostaten gebracht, die Zeit notiert. Sollte noch ein zweites Wiegegläschen gefüllt werden, so ließ ich vorerst wieder Blut abfließen und verfuhr dann ebenso wie mit dem ersten. Dann kamen die Hohlperlencapillaren an die Reihe, die zur Füllung nur wenige Tropfen Blut beanspruchten; vor der Entnahme ließ ich auch hier immer ein wenig Blut abfließen.

Die Beobachtung der Wiegegläschen geschah durchschnittlich alle 2 Minuten, indem der Beginn der Gerinnung und das Ende derselben verzeichnet wurden. Als Beginn der Gerinnung wurde ein deutlicher rötlicher Belag an den Glaswänden angesehen: er ließ sich meist sicher und eindeutig

feststellen. Als vollendet wurde die Gerinnung betrachtet, wenn der Inhalt des Gläschens erstarrt erschien, die Oberfläche des Blutes der Neigung des Gläschens nicht mehr folgte und das Gläschen sich ohne weiteres kippen ließ. Meist konnte dieser Punkt leicht bestimmt werden, das Blut füllte als fester Ausguß mit glatter Oberfläche den Boden des Gläschens.

In einigen Fällen mit langsamerem Gerinnungsverlauf (besonders bei der ersten Blutentnahme) bereitete die Bestimmung des Endpunktes größere Schwierigkeiten, da die Merkmale hier weniger eindeutig ausfielen: so konnte die Oberfläche bei leichterem Neigen schon erstarrt erscheinen, beim Versuche das Glas zu kippen stülpte sie sich aber bedeutend vor, brach bisweilen durch und ließ noch flüssige Teile austreten, oder man konnte das Glas wohl kippen, aber die starke Hervorstülpung der Oberfläche wies deutlich darauf hin, daß die Gerinnung noch nicht den ganzen Inhalt des Gläschens betroffen hatte. In solchen Fällen wartete ich nur die Bildung eines annähernd festen Blutkuchens ab (da sonst bei längerer Beobachtung sogar eine partielle Retraktion des Gerinnsels mit Serumaustritt erfolgen konnte, ohne daß die vollkommene Erstarrung erreicht worden wäre).

In der Beurteilung der Gerinnungsresultate bei den Hohlperlencapillaren folgte ich im großen und ganzen den Angaben von Schultz. In gewissen Zeitabständen je nach der voraussichtlichen zeitlichen Ausdehnung des Gerinnungsvorganges wurden die Hohlperlen abgebrochen und in die entsprechenden Reagensgläser mit NaCl-Lösung geworfen.

Das Abbrechen der Hohlperlen bietet in technischer Hinsicht, meiner Meinung nach, gewisse Schwierigkeiten, die an die Geschicklichkeit des Untersuchers doch größere Anforderungen stellen, als Schultz angibt, jedenfalls in der Handhabung, wie ich es in Anbetracht der Temperatur von 20° als unerläßlich, aber auch abgesehen von den Temperaturverhältnissen als angebracht erachte. Schultz erklärt nicht, wie das Abbrechen geschehen soll. Ich finde nämlich, daß bei der Feinheit der Hohlperlencapillaren ein direktes Anfassen mit den Fingern unstatthaft ist, es kommt daher nur eine instrumentelle Berührung in Betracht, und diese eben ist bei der kugelartigen Form der Perlen von Schwierigkeiten begleitet. Ich glaube wohl, daß sich entsprechende Klemmen zum Abbrechen der einzelnen Perlen herstellen ließen, ich habe mich aber damit beholfen, daß ich mit zwei gewöhnlichen anatomischen Pinzetten die Hohlperlencapillaren am letzten und drittletzten Intervallstück anfaßte und auf diese Weise je zwei Perlen auf einmal abbrach. Der größeren Blutmenge gemäß, die in zwei Perlen enthalten war, wurden die Reagensgläser mit je 2 ccm (statt 1 ccm) Kochsalzlösung gefüllt.

Es wurde auch hier der Beginn und das Ende der Gerinnung verfolgt. Als Beginn wurde das Auftreten eines röt-

lichen Belages an den Wandungen der Hohlperlen oder eines in der NaCl-Lösung frei schwimmenden, eben nur deutlich sichtbaren Gerinnsels angesehen. Als Ende wurde der Moment betrachtet, wenn die Hohlperlen von einem kompakten Gerinnsel ausgefüllt erschienen und die Kochsalzlösung klar blieb oder eine nur leichte Opalescenz zeigte. Beide Gerinnungsstufen ließen sich in der Regel recht genau und eindeutig feststellen; in einigen Fällen aber blieb eine Trübung der NaCl-Lösung durch blutige Beimischung dauernd bestehen, ohne daß man mit voller Sicherheit den Endpunkt hätte bestimmen können.

Die Methode von Schultz macht den Eindruck eines exakten Verfahrens, das in anschaulicher und zugleich einfacher Weise die folgemäßige Entwicklung des Gerinnungsvorganges vor Augen führt, indem Beginn und Ende sich meist einwandfrei feststellen lassen. Die längeren Gerinnungszeiten gestatten ein ruhigeres Arbeiten und lassen gewisse Schwankungen markanter hervortreten. Einzelne Unzulänglichkeiten, auf die ich im Interesse der Methode hinweisen zu müssen glaubte, betreffen nicht das Prinzip, sondern nur die äußere Seite derselben. Es ist zu wünschen, daß die kleinen Hindernisse, die einer allgemeineren Anwendung der Methode im Wege stehen, baldmöglichst beseitigt würden, damit ihrer verdienten Verbreitung nichts mehr im Wege stände.

In den weiter zu beschreibenden Versuchen diente die erste Blutentnahme zur Bestimmung der normalen Gerinnungsfähigkeit des Blutes beim betreffenden Kaninchen, die weiteren Aderlasse, denen ev. eine Entnahme größerer Blutmengen voranging oder ein anderer Eingriff eingeschoben wurde, sollten die durch den Blutverlust bewirkte Beschleunigung der Gerinnung aufdecken.

Für verschiedene Kaninchen konnte kein einheitlicher Normalwert für die Gerinnungsfähigkeit des Blutes gefunden werden, die Gerinnungszeiten variierten in weiten Grenzen: bei der Wiegegläschenmethode zwischen 17′ und 44,5′, bei den Hohlperlencapillaren zwischen 9,5′ und 22,0′, so daß die Veränderungen in den Gerinnungszeiten bei sukzessiven Blutentnahmen nur für den einzelnen Fall einen absoluten Vergleichswert besitzen, sonst aber nur von relativer Bedeutung sind.

Die größeren Blutentnahmen in den ersten Versuchen (20 bis 55 ccm) zogen einen zu schnellen Exitus der Tiere nach sich, so daß die Beobachtung sich nur über 2 bis 3 Gerinnungsbestimmungen erstrecken konnte. Das war natürlich ein Nachteil, um so mehr, als die einzelnen Versuchsergebnisse nicht ganz übereinstimmten und die Resultate der beiden Methoden nicht eindeutig ausgefallen waren. Während in einem Falle eine Entnahme von 20 ccm Blut eine Verkürzung der Gerinnungszeit (= GZ.) von 36′ auf 10′ bewirkte und somit deutlich für eine Beschleunigung sprach, hatten in einem anderen Falle viel größere entzogene Blutmengen von 55 ccm und 30 ccm nacheinander einen viel geringeren Effekt: I. Bestimmung GZ. = 25′; 55 ccm Blut entnommen, II. GZ. = 21,5′; 30 ccm Blut entnommen, III. GZ. = 18′. Diese Werte ergaben die Wiegegläschen; der Ausschlag bei den Hohlperlencapillaren war ein viel kleinerer; im ersten Falle z. B. von 20′ auf 14′, im zweiten Falle zeigte die Entnahme von 55 ccm Blut keinen Einfluß, zum Schlusse wurde aber sogar eine Verzögerung beobachtet.

Damit die Beobachtung nachhaltiger sein könnte, wurde in den weiteren Versuchen bei den einzelnen Blutentnahmen eine Menge von 15 ccm Blut nicht überschritten: die Schwankungen der Gerinnungsfähigkeit (= GF.) des Blutes ließen sich so längere Zeit hindurch verfolgen. Zugleich wurden Anstalten getroffen, um durch Berücksichtigung gewisser Nebenumstände vielleicht eine Erklärung für den verschiedenen Ausfall der Gerinnungsresultate zu finden. Bei den ersten Versuchen wurde bei der Freilegung der Carotis auf die Art und Weise, wie die Wunde angelegt wurde, nicht besonders geachtet. Der Gedanke lag aber nahe, daß eine größere blutige Wundfläche mit mehrfachen Blutgerinnseln darauf eine Absorption von gerinnungsbefördernden Substanzen (Thrombokinase, Thrombin) bewirken und sekundär auch die GF. der ganzen Blutmenge im Kreislaufe beeinflussen könnte. Um die Bedeutung dieses Faktors zu prüfen, wurden in einem Falle die Carotiden durch ganz kleine, blutlose Wunden immer nur eine kleine Strecke weit bloßgelegt und von hier aus die Blutentnahme vollzogen, im anderen Falle wurden absichtlich große Wundflächen, die von Blut überrieselt wurden und von Blutgerinnseln bedeckt waren, angelegt und dann erst die Blutentziehung unternommen. Wenn ich zwei derartige Versuche gegenüberstelle, so lassen sich keinerlei in die Augen fallenden Unterschiede feststellen (vgl. Fig. 1 und 2): die Hohlperlencapillaren (C_1 und C_2) ergaben in beiden Fällen für alle sechs sukzessiven Blutentnahmen von je 100 ccm sehr nahestehende Werte mit nur

geringen Schwankungen; die Ergebnisse der Wiegegläschen schienen auf eine bedeutende Beschleunigung bei der zweiten Gerinnungsbestimmung hinzuweisen, bei den nächsten Blutentnahmen traten aber auch wieder Verzögerungen auf und das Verhalten der GF. zeigte keine gesetzmäßige Abhängigkeit von der entzogenen Blutmenge.

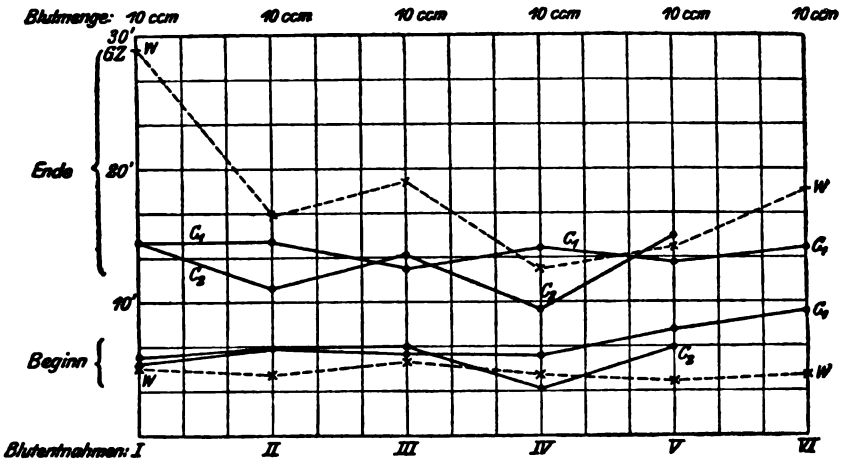


Fig. 1.

Kaninchen 1420 g, blutiges Freilegen der Carotiden. Große Wundfläche, überrieselt von Blut.

W = Wiegegläschen.
C_1 und C_2 = Hohlperlencapillaren.

Als Erklärung für manche Schwankungen der Gerinnungszeiten können auf Grund der gesamten Tabellen zwei Momente dienen. Bei den Wiegegläschen steht die Dauer des Gerinnungsverlaufes in manchen Fällen in einem zweifellosen Zusammenhange mit der Schnelligkeit des Blutstromes bei der Entnahme (Fig. 2 und 3). War der Blutdruck gut, floß das Blut unbehindert in einem kräftigen Strahle heraus, so war ceteris paribus die Gerinnungszeit viel länger, als wenn das Blut bei schlechtem Drucke nur tropfenweise in das Gläschen fiel. Bei ein und derselben Blutentnahme z. B. floß das Blut in das erste Wiegegläschen im Strahle hinein, in das zweite tropfte es langsam ein und die Resultate waren unter sonst gleichen Bedingungen: für den ersten Fall GZ. = 32,5', für den zweiten GZ. = 18,5'. Das sind natürlich ganz enorme Differenzen,

deren ursächliche Abhängigkeit von dem langsameren oder schnelleren Einströmen des Blutes keinem Zweifel unterliegt. Ob nicht aber geringere Unterschiede in der Schnelligkeit des Blutstromes, die nicht so in die Augen fallend sind, auch schon einen Ausschlag für die Gerinnungsdauer geben könnten, erscheint nach den erwähnten Erfahrungen nicht unwahrscheinlich. Jedenfalls wird man bei Beurteilung einer Gerinnungsbeschleunigung diesen Punkt stets mit berücksichtigen müssen (vgl. Fig. 2 und 3, 2. Blutentnahme).

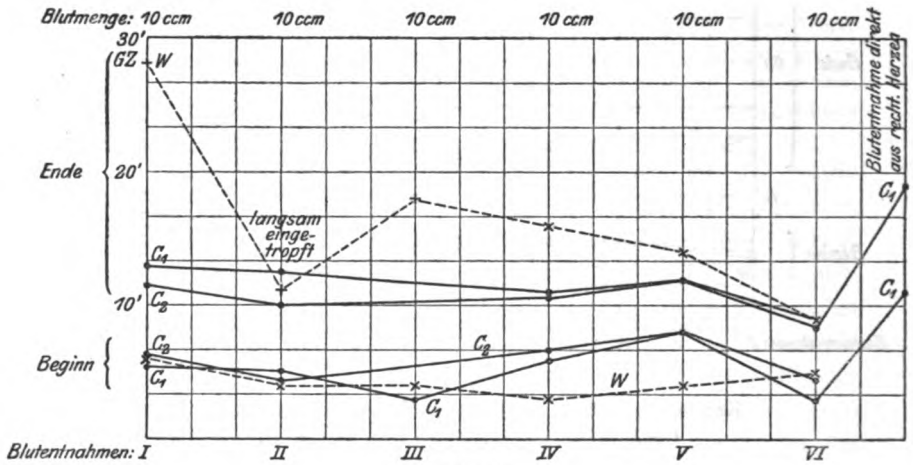


Fig. 2.

Kaninchen 1520 g. Blutloses Freilegen der Carotiden.

×---------× W = Wiegegläschen.

●———● C = Hohlperlen.

In einer Reihe anderer Fälle überrascht das Anwachsen der Gerinnungszeiten gerade zum Schlusse der sukzessiven Blutentnahmen, wo man dem größten Blutverluste gemäß die stärkste Beschleunigung erwartet hätte. Eine Verzögerung in diesen Fällen wird mit großer Wahrscheinlichkeit auf eine stärkere Ansammlung von Kohlensäure im Blute zurückzuführen sein. Nach einer Reihe sukzessiver Blutentnahmen, die einen größeren Blutverlust bedeuteten, waren die Tiere oft dem Exitus nahe, der Blutdruck sank und das Blut gewann ein dunkles, venöses Aussehen. Im Versuch auf Fig. 2 war nach der 6. Blutentnahme der Blutdruck so schwach, daß aus der Carotis kein Blut mehr floß; nach Eröffnung des

Thorax wurde das rechte, noch schwach pulsierende Herz angeschnitten und eine Hohlperlencapillare mit dem ausströmenden Blute gefüllt; trotz der Möglichkeit einer Beimischung von Gewebssaft war die Verzögerung im Vergleich zu den früheren Gerinnungszeiten eine bedeutende. Auch dieser Umstand verdient bei der Beurteilung der Gerinnungsresultate nach sukzessiven Blutentnahmen Beachtung.

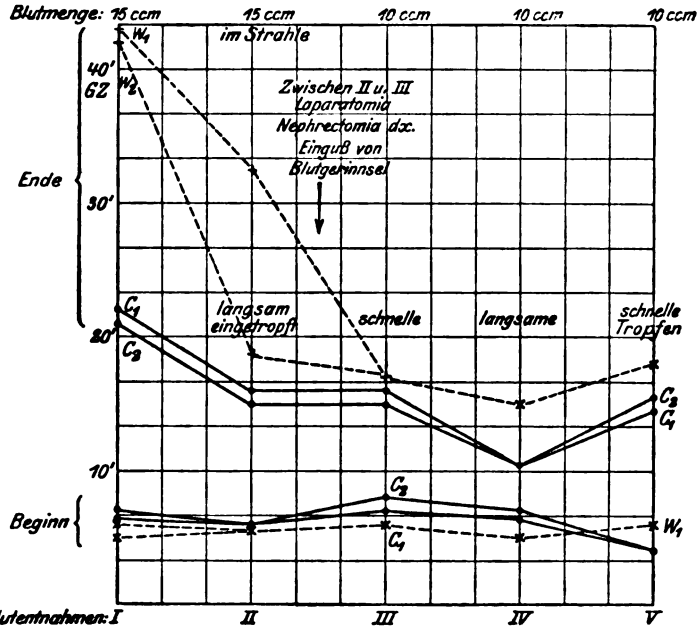


Fig. 3.

W = Wiegegläschen.
C = Hohlperlen.

Die Absorption gerinnungsbefördernder Substanzen von der Wunde aus schien also auf die GF. des Blutes keine deutliche Wirkung zu haben. Um die Absorptionsverhältnisse günstiger und ausgiebiger zu gestalten und in den Gerinnungsresultaten einen größeren Ausschlag bei sukzessiven Blutentnahmen zu erzielen, wurde zwischen zwei bestimmten Aderlässen ein größerer Eingriff, der voraussichtlich die GF. des Blutes beeinflussen würde, vorgenommen.

Nachdem 2 (selten 3) Gerinnungsbestimmungen bei je 2 (resp. 3) aufeinanderfolgenden Blutentnahmen von je 10 bis

15 ccm vorausgegangen waren, wurde dem Kaninchen eine Laparotomie gemacht und in die Bauchhöhle Blutgerinnsel, abgepreßtes Serum, auch frisches Blut eingegossen, oder es wurde eine umfangreichere Traumatisierung des Retroperitonealgewebes mit einseitiger Nierenexstirpation ausgeführt, oder es wurde endlich auch Organextrakt, nach den Vorschriften von Morawitz[1]) hergestellt, in das Cavum peritonaei gebracht, um durch die starke absorptive Tätigkeit des Peritonaeums einen Übergang der gerinnungsbefördernden Substanzen in den allgemeinen Kreislauf zu bezwecken und dementsprechend eine Veränderung der GF. des Blutes zu erzielen. All diese Manipulationen hatten indes nicht den gewünschten Erfolg. Die Wiegegläschen ergaben hauptsächlich nach der ersten Blutentnahme, wie in den früheren Versuchen, eine Gerinnungsbeschleunigung, der Eingriff an sich hatte dann keine deutliche Einwirkung mehr (z. B. Versuch 7 vom 21. VII. 1911: I. Blutentnahme 10 ccm, GZ. = 31,5′; II. 15 ccm, GZ. = 25′; III. 10 ccm, GZ. = 15,5′; Entnahme von 20 ccm Blut, Laparotomie, Einguß von frischem Blut, Blutgerinnseln und Serum; IV. 10 ccm, GZ. = 13′), oder die Gerinnungszeit nahm nach dem Eingriff sogar an Dauer zu (z. B. Versuch 10 vom I. VIII. 1911: I. Blutentnahme 15 ccm, GZ. = 30′; II. 15 ccm, GZ. = 25′; Einguß von 40 ccm Organextrakt; III. 15 ccm, GZ. = 23′; IV. 15 ccm, GZ. = 30′). Als Beispiel kann auch der auf Fig. 3 vorgeführte Fall dienen.

Die Hohlperlencapillaren zeigten in einem Falle ein mehr konstantes Verhalten der Gerinnungszeiten, nach dem Eingriffe eher sogar eine Zunahme der Gerinnungsdauer (Versuch 7: I. GZ. = 16′; III. GZ. = 13′; Eingriff; IV. GZ. = 15′; V. GZ. = 17,5′); in einem anderen Falle wiesen sie mit jeder Blutentnahme eine Beschleunigung auf, die durch den Eingriff keine merkliche Veränderung erlitt, während zum Schlusse die Gerinnungszeiten wieder anwuchsen (vgl. Fig. 3, C_1 und C_2); in einem dritten Falle endlich wurde die Gerinnungsdauer mit den sukzessiven Aderlässen und trotz des Eingriffes allmählich größer, so daß statt einer Beschleunigung eher von einer Verzögerung die Rede sein mußte (Versuch 10: I. GZ. = 10,5′;

[1]) P. Morawitz, Die Blutgerinnung, l. c.

II. GZ. = 16′; Eingriff; III. GZ. = 19′; IV. GZ. = 17′). In einem früher ausgeführten Versuche, der mir von Prof. Morawitz freundlichst überlassen wurde, ergab neben sukzessiven Blutentnahmen eine transperitoneale Nephrektomie, wie auch die Amputation eines Beines bei der Wiegegläschenmethode nur einen geringen Ausschlag, der zugleich aber durch das langsame Einträufeln des Blutes in das Glas bedingt sein konnte, hervorrief. (I. GZ. = 18′; II. GZ. = 20′; Laparotomie, Nephrektomie; III. GZ. = 18′; Amputation; IV. langsam eingetropft B., GZ. = 14′).

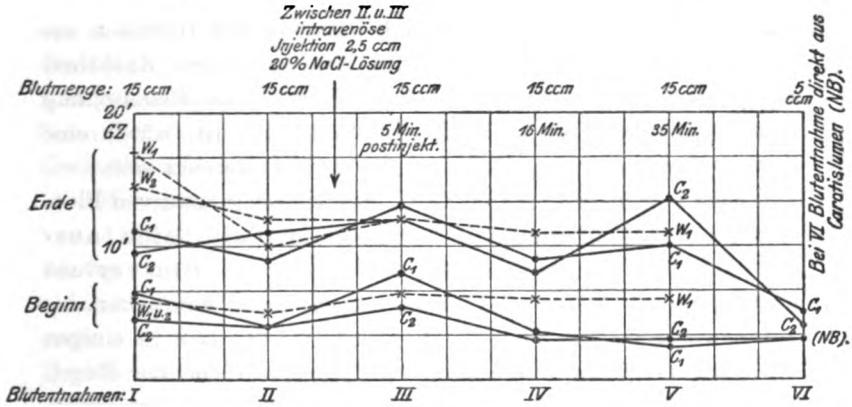


Fig. 4.

Kaninchen 1810 g.

×---------× W = Wiegegläschen.

●———● C = Hohlperlencapillaren.

In Anbetracht der Angaben von den Veldens[1]), daß bei intravenöser Zufuhr hypertonischer NaCl-Lösungen eine bedeutende Beschleunigung der Blutgerinnung eintreten soll, wurde auch dieses Verfahren gewählt, um einen größeren willkürlichen Ausschlag zu erhalten. Wie Fig. 4 zeigt, blieb eine Wirkung (nach Injektion von 2,5 ccm 20%iger NaCl-Lösung) trotz der gleichzeitigen sukzessiven Blutentnahmen vollkommen aus, während von den Velden nach Verlauf von 5 bis 15 Minuten post injectionem eine derartige Beschleunigung fand, daß das Blut nach der Entnahme sofort gerann.

[1]) R. von den Velden, Blutuntersuchungen nach Verabreichung von Halogensalzen. Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Ther. 7, 290, 1909.

Bei mir zeigt der Gerinnungsverlauf nach 5, 16 und 35 Minuten post injectionem gerade in diesem Falle nicht die geringste Schwankung, und auch der Beginn der Gerinnung hält sich eher an höhere Zahlen; die Hohlperlencapillaren zeigen zwar keine so gleichmäßigen Gerinnungszeiten wie sonst, doch stehen die kleinen Schwankungen in keinem Zusammenhang mit der Injektion. In einem anderen Falle, in dem ich die Injektion von 2,5 ccm 20%iger NaCl-Lösung in eine Ohrvene ausführte und Blutproben aus stets frischen Anstichen der Ohrvenen entnahm, trat ebenfalls keine Beschleunigung nach 5, 17, 33 Minuten post injectionem im Vergleich mit den vor der Injektion erhaltenen Gerinnungszeiten ein; bei der geringeren Exaktheit der Blutentnahme aus Einstichen, bei der eine Beimischung von Gewebssaft doch nicht ganz zu vermeiden ist, würde eine gewisse Beschleunigung nicht einmal ganz beweisend sein.

Die Gerinnungsresultate, die ich bei sukzessiven Blutentnahmen erhielt und die in keinem Falle eine ausgesprochene Gesetzmäßigkeit zwischen Blutverlust und Blutgerinnung offenbarten, zeigen eine Übereinstimmung mit den Beobachtungen von Morawitz[1]), der sich in einigen mit allen Kautelen unternommenen Versuchen von der Regelmäßigkeit der Gerinnungsbeschleunigung nach Blutverlusten auch nicht überzeugen konnte; sie stehen aber in vollem Gegensatze zu den Behauptungen anderer Autoren, die gerade ein gesetzmäßiges Verhältnis zwischen diesen Erscheinungen betonen.

Besonders auffallend sind die absolut eindeutigen Versuche von Arthus[2]). Als Versuchstiere dienten Arthus Hunde; die Gerinnungsbestimmungen führte er an größeren Blutmengen (10 ccm) aus. Als Regel, ohne Ausnahme, fand Arthus, daß die Gerinnungsbeschleunigung um so rascher anstieg, je größer die entnommene Blutmenge war. Die erreichte Gerinnungsbeschleunigung war nicht vorübergehend, sondern hielt bis 2 Wochen an; bei weiteren Blutentnahmen erzielte er eine progressive Verkürzung der GZ., bis schließlich das Maximum der Beschleunigung, das auch durch Zusatz von Gewebssaft nicht

[1]) P. Morawitz, Die Gerinnung des Blutes. Oppenheimers Handb. der Biochem. 2, 56, 1909.

[2]) M. Arthus, Sur la vitesse etc., l. c.

mehr verstärkt werden konnte, erreicht wurde. Die Unterschiede in den GZ. betrugen bei Arthus z. B. 7′45″ bei der ersten Blutentnahme und 45″ bei der letzten; Blutentnahmen von 10 ccm riefen wenigstens eine Beschleunigung der Gerinnung von 6′ auf 5′45″ hervor.

Ähnliche Beobachtungen konnte Arloing[1]) an großen Mengen Pferdeblut machen, das folgemäßig in 4 Kolben zu je 2 l zum Zwecke der Erhaltung von Heilserum gesammelt wurde: der nächstfolgende Kolben gerann immer schneller als der vorhergehende. Genauere zeitliche Angaben fehlen. Da zur Füllung der Kolben ein und derselbe Schlauch diente, so kommt bei der Gerinnungsbeschleunigung in diesem Falle, wie auch Arloing bemerkt, eine progressive Alteration der Blutelemente beim Verlauf durch den Schlauch (mit ev. hinzukommender Gerinnselbildung im Schlauche) in Betracht.

Wie man die Widersprüche in den Befunden besonders von Arthus mit den meinigen zu lösen hat, ist wohl gegenwärtig schwer zu entscheiden. Der Einfluß der Tierspezies an sich auf die Gerinnungsresultate bei sukzessiven Blutentnahmen erscheint recht unwahrscheinlich. Die GF. wird innerhalb einer Tierklasse wohl kaum solchen Differenzen unterworfen sein Außerdem hat v. d. Velden[2]) seine positiven Beobachtungen zum Teil an Kaninchen gemacht. Bedeutsamer ist die Wahl der Methode zur Gerinnungsbestimmung und die Technik der Blutentnahme. Weniger einwandfrei ist natürlich die Blutentnahme aus Einstichen der Ohrvene bei Kaninchen, wie das v. d. Velden z. B. mehrfach tat. Arthus scheint bei sehr exakter Technik seine Kanülen nicht paraffiniert zu haben. Von den Methoden wird diejenige, die in den Gerinnungszeiten einen größeren Ausschlag gibt, den Vorzug verdienen: auf diese Weise werden die erzielten Unterschiede in der Gerinnungsdauer des Blutes prägnanter auftreten und beweiskräftiger erscheinen. Daher wird die Bürkersche Methode, die v. d. Velden benutzte, für diese Fälle weniger geeignet sein, da die geringen Differenzen im Rahmen einer

[1]) F. Arloing, A propos des variations de la coagulabilité du sang etc. Compt. rend. de Soc. Biol. 53, 675, 1901.

[2]) R. v. d. Velden, Blutverlust und Blutgerinnung. Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 61, 1909.

Minute und weniger nicht die nötige Beweiskraft besitzen. Arthus verwandte zur Beobachtung größere Blutmengen (10 ccm), die natürlich längere GZ. verlangen und markantere Unterschiede ergeben. Doch begnügte er sich nur mit je einer Blutprobe und zog auch keine andere Methode zum Vergleich heran.

Ich habe bei der Blutentnahme, wie bei der Gerinnungsbestimmung die genannten Punkte zu berücksichtigen gesucht. Natürlich kann ich diesem Umstande allein keine besondere Bedeutung für die erhaltenen Gerinnungsresultate beimessen. Es müssen, aller Wahrscheinlichkeit nach, noch andere Faktoren außer den sukzessiven Blutentnahmen bei der Beeinflussung der GF. des Blutes mitspielen, die die Resultate so verschieden gestalten. Diese Faktoren glaubte ich z. T. vielleicht in gewissen gerinnungsbefördernden Substanzen, die von der Wunde des Versuchstieres absorbiert wurden, nachweisen zu können. Doch, wie erwähnt, erhielt ich dabei eher negative Resultate.

Fig. 5.

Durchschnittswerte für die Gerinnungszeiten bei sukzessiven Blutentnahmen.

W = Wiegegläschen.
C = Hohlperlen.

Zu welchen Schlüssen berechtigen nun die von mir gewonnenen Gerinnungsresultate? Wenn wir zuerst die Ergebnisse der Wiegegläschenmethode überblicken, so fällt

allerdings auf, daß die längste GZ. stets der ersten Gerinnungsbestimmung zukommt. Bei weiteren Blutentnahmen fällt dann die GZ. stets, doch in sehr verschiedener Weise: meist erweist sich die erste Blutentnahme schon als entscheidend für die Veränderung der GF. des Blutes, so daß beim zweiten Aderlaß die Gerinnungsbestimmung bedeutend niedrigere Zeitwerte ergibt; in anderen Fällen tritt eine bedeutende Gerinnungsbeschleunigung erst bei der dritten Blutentnahme ein oder man kann wieder nur ein allmähliches Absinken der GZ. konstatieren. Die auf einmal entzogene Blutmenge scheint nicht so sehr ins Gewicht zu fallen, da 10 ccm vielfach einen großen Ausschlag ergaben, 55 cm in einem Falle z. B. nur eine geringe und dazu allmähliche Erhöhung der Gerinnungsbeschleunigung nach sich zogen. Ist von einer Blutentnahme bis zur folgenden der Abfall der GZ. geschehen, so kann die Wirkung der weiteren Blutverluste eine verschiedene sein. In den wenigsten Fällen wurde eine mäßige, progressiv anwachsende Beschleunigung entsprechend den sukzessiven Blutentnahmen beobachtet; in den meisten Fällen war das Verhalten der GF. des Blutes eher ein regelloses zu nennen. Entweder verblieben die GZ. auf den einmal erreichten Werten oder es traten Schwankungen ein, die bald eine Verzögerung, dann wieder eine Beschleunigung der Blutgerinnung vorführten; bisweilen betraf eine Verlängerung der GZ. gerade den Schluß des Versuchs, wo man im Gegenteile dem größten Blutverluste gemäß die stärkste Beschleunigung erwartet hätte. Die einzelnen Eingriffe, die im Verlaufe des Versuchs zwischen zwei Blutentnahmen eingeschoben wurden, ließen keinen Zusammenhang mit den darauffolgenden Gerinnungsbestimmungen erkennen. Wenn wir die Ergebnisse der Wiegegläschenmethode an der Hand der Fig. 5 nachprüfen, so bekommen wir als Resultante aus all den verschiedenen Versuchsprotokollen eine Kurve, die eine progressive, allmählich an Kraft abnehmende Gerinnungsbeschleunigung veranschaulicht. Den tatsächlichen Verhältnissen entspricht sie in allen Teilen natürlich nicht: sie ist eben dadurch zustande gekommen, daß die in Wirklichkeit regellosen Fälle durch ihre Gegensätze einander aufheben. Immerhin prägt sich in dieser Kurve die Tendenz der GF. des Blutes

bei sukzessiven Blutentnahmen zu einer Beschleunigung aus.

Tabelle.

Vergleich der Ergebnisse bei sukzessiven Blutentnahmen.

Blutentnahme	Durchschnittszahlen für den Beginn der Gerinnung		Durchschnittszahlen für das Ende der Gerinnung	
	Wiegegläschen	Hohlperlencapillare	Wiegegläschen	Hohlperlencapillare
I.	4,75	6,49	30,35	14,76
II.	4,90	5,53	21,22	13,25
III.	5,00	6,96	17,04	14,72
IV.	5,40	6,35	16,90	11,75 (12,24)
V.	5,00	6,06 (5,92)	14,25	13,65 (13,93)
VI.	4,75	5,5 (5,5)	13,75	10,5 (8,1)

Wenn auch in einer Reihe von Gerinnungsbestimmungen mittels der Wiegegläschenmethode die Resultate durch den ungleichmäßigen Blutstrom aus der Kanüle getrübt wurden, so ließen sich dank der gleichzeitigen Verwendung von zwei parallelen Gläschen, wie durch genaue Protokollierung die entsprechenden Korrektiven einführen. Wenn dieser allerdings äußere Umstand bei der Beurteilung der Gerinnungsbeschleunigung nie vergessen werden darf, so fällt ihm doch keineswegs die Bedeutung zu, daß man die in meinen Versuchen vorgefundenen Änderungen der Gerinnbarkeit des Blutes hauptsächlich auf diesen Faktor zurückführen wollte. Die sukzessiven Blutentnahmen hatten zweifellos einen Einfluß auf die GF. des Blutes, doch machte sich der letztere nicht immer in derselben Weise, in demselben Grade und im Anschlusse an die (der Zahl nach) gleiche Blutentnahme geltend; auch ließ er jede Abhängigkeit von der Größe des Blutverlustes vermissen. Beachtung verdient der Umstand, daß neben den mannigfaltigen Änderungen in der Zeit bis zur vollendeten Gerinnung der Beginn der letzteren fast konstant auf denselben Werten verbleibt (vgl. Fig. 5 und Tabelle „Beginn").

Neben der Wiegegläschenmethode kommen noch die Ergebnisse der Hohlperlencapillaren als Vergleichswerte in

Betracht. Die Zeiten für den Beginn der Gerinnung entsprechen jenen der Wiegegläschenmethode oder übersteigen die letzteren nur um ein wenig; wie diese sind sie aber auch recht konstant und beteiligen sich kaum an den Schwankungen der für die vollendete Gerinnung erhaltenen Werte (vgl. die Tabelle). Die Gerinnungszeiten, die die Vollendung des Prozesses angeben, sind bei den Hohlperlencapillaren bedeutend niedriger als jene der Wiegegläschenmethode, wenn man die Werte der ersten Blutentnahmen vergleicht. Während aber bei den Wiegegläschen, wie wir sahen, mit dem zweiten oder dritten Aderlaß eine deutliche Gerinnungsbeschleunigung eintrat, zeigen die Hohlperlencapillaren im großen und ganzen viel geringere Schwankungen in den Gerinnungszeiten. Dort, wo der Ausschlag bei den Wiegegläschen besonders groß ausfällt, finden wir allerdings auch bei den Hohlperlencapillaren eine mäßige Beschleunigung und gewissermaßen parallele Werte (Fig. 3). Meistens aber findet man neben kleineren Schwankungen — auf und nieder — annähernd gleiche Gerinnungszeiten wie bei der ersten, so auch bei der letzten Blutentnahme. In diesem Falle geben die Durchschnittszahlen ein recht richtiges Bild von den tatsächlichen Verhältnissen (Tabelle „Ende"); sie gewinnen noch an Anschaulichkeit, wenn man sie in Kurvenform den Wiegegläschen gegenüberstellt, wie das Fig. 5 „Ende" vorführt. Die Resultate der Hohlperlencapillaren, die in der Mehrzahl der Fälle bei sukzessiven Blutentnahmen keine deutliche Gerinnungsbeschleunigung ergaben, können natürlich die Ergebnisse der Wiegegläschenmethode nicht aufheben, doch scheinen sie dafür zu zeugen, daß die Änderungen der GF. des Blutes bei wiederholten Blutverlusten keine so ausgesprochenen und durchgreifenden sind, wie das aus manchen Beobachtungen anderer Forscher hervorgeht. Denn die Methode von Schultz hat an und für sich auf uns den Eindruck eines recht exakten Verfahrens gemacht und, wenn auch einige technische Unzulänglichkeiten (besonders der Capillaren) störend wirken konnten, so bewiesen die gleichmäßigen Werte, die bei jeder Blutentnahme gleichzeitig an zwei parallelen Capillaren gewonnen wurden, wie auch die vielfache Übereinstimmung der an verschiedenen Kaninchen erhaltenen Gerinnungszeiten, daß die

Methode recht genau arbeitet. Im Vergleiche mit der Wiegegläschenmethode erscheint das Verfahren von Schultz vielleicht weniger empfindlich, doch kann diese Eigenschaft der Methode dazu dienen, gröbere Abweichungen, stärkere Veränderungen der GF. des Blutes um so besser aufzudecken.

Man kann also aus den Ergebnissen beider Methoden den Schluß ziehen, daß bei Blutverlusten eine Gerinnungsbeschleunigung wohl eintreten kann, daß aber die Intensität derselben kein bestimmtes Verhältnis zur verlorenen Blutmenge zeigt, manchen Schwankungen durch unbekannte Einflüsse unterworfen ist und nicht bei jeder Methode der Gerinnungsbestimmung in gleich deutlicher Weise manifest zu werden braucht. Die mehr gleichmäßigen Gerinnungsresultate der Schultzschen Methode zeigen zugleich — neben dem negativen Ausfall einer Gerinnungsbeschleunigung nach verschiedenen Eingriffen, von denen wohl eine gerinnungsbefördernde Einwirkung zu erwarten war —, daß die GF. des Blutes eine Eigenschaft des lebenden Organismus darstellt, die keineswegs so leicht und einfach zu beeinflussen ist, wie das aus manchen Versuchen anderer Autoren hervorging und wie das im Interesse der Klinik wohl zu wünschen und zu erstreben ist.

Angenommen, daß die Blutverluste an sich gerinnungsbeschleunigend wirken sollten, so erscheint es wahrscheinlich, daß die Veränderung der Gerinnbarkeit des Blutes infolge eines Blutverlustes auf keinem einheitlichen Mechanismus, der stets und in jedem Falle auf eine und dieselbe Weise einsetzt, beruht, und daß in diesem Sinne keine gesetzmäßige physiologische Reaktion vorliegt. Man kann vielmehr annehmen, daß die GF. des Blutes, die sich aus so vielen Komponenten zusammensetzt, durch den Blutverlust aus dem Gleichgewicht gebracht wird und bei den Versuchen des Organismus, die alten Druckverhältnisse wieder herzustellen, den Verlust zu kompensieren und zu regenerieren, manchen Schwankungen entsprechend dem herbeigeschafften Ersatzmaterial unterlegen ist. Und wenn wir bedenken, daß sogar schon der Gehalt des Blutes an Kohlensäure, der zum Gerinnungsmechanismus im engeren Sinne gar keine Beziehung hat, einen Ausschlag für die Gerinnungsdauer ergeben kann,

so werden wir nach Blutverlusten der Verschiebung des gegenseitigen Verhältnisses unter den eigentlichen Gerinnungsfaktoren, wie auch unter den übrigen Bestandteilen des Blutes eine noch viel größere Bedeutung einräumen müssen. Aus dem Ineinanderwirken der jeweilig vorhandenen Faktoren wird für jede Blutentnahme in jedem einzelnen Falle eine GF. des Blutes resultieren, die wohl manchen Schwankungen unterworfen sein dürfte. Es scheint daher die Annahme berechtigt, daß erst eine genauere Kenntnis der Blutveränderungen nach Blutverlusten im allgemeinen einen sicheren Rückschluß auf die Ursachen der vorgefundenen Gerinnungsschwankungen im speziellen erlauben wird.

Über Beeinflussung der Autolyse durch Jod.

Von

Leon Kepinow.

(Aus der biologischen Abteilung des Instituts für experimentelle Krebsforschung in Heidelberg.)

(Eingegangen am 16. Oktober 1911.)

Nachdem sich herausgestellt hatte, daß die Komplementwirkung durch Jodzusatz in eigenartiger Weise gehemmt wird, war es von Interesse, die Wirkung des Jods auf die Fermente zu prüfen. v. Dungern und Hirschfeld haben damit schon begonnen und festgestellt, daß Pankreatin jodiertes Eiweiß schwerer angreift.

Ich habe mich an diesen Untersuchungen beteiligt und speziell die Autolyse unter der Einwirkung von Jod in Angriff genommen[1]).

I.

A. Leberautolyse mit und ohne Lugolsche Lösung in vitro.

170 g Leber wurden zu Brei verrieben und mit 300 ccm phys. Kochsalzlösung aufgeschwemmt.

Die gesamte Menge wurde in einzelne Portionen von je 120 oder 100 ccm verteilt; ein Teil davon wurde mit Jodkalilösung versetzt, ein anderer diente als Kontrolle. Im andern

[1]) Über die Beeinflussung der Autolyse durch verschiedene andere Substanzen liegen schon zahlreiche Arbeiten vor: Ascoli u. Izar: Berl. klin. Wochenschr. **1907**, 96 und diese Zeitschr. **10**, 356. — Izar: diese Zeitschr. **20**, 249. — Derselbe: diese Zeitschr. **21**, 46. — Truffi: diese Zeitschr. **23**, 270. — Leo Hess u. Paul Soxl: Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Therapie **5**, 89. — Satta u. Dasiani: Berl. klin. Wochenschr. **32**, 1910. — Preti: Compt. rend. Soc. biol. **65**, 224. — Laqueur: Centralbl. f. Physiol. **22**, 717. — Chiari: Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **60**, 256. — Brüll: diese Zeitschr. **29**, 408.

Falle wurde zerriebene Lebersubstanz in gleiche Gewichtsmengen geteilt und dann in Kochsalzlösung aufgeschwemmt. Bei der Jodierung des Leberbreies wurde berücksichtigt, daß das Jod lediglich bei alkalischer Reaktion sich mit Eiweiß verbindet. Es wurde daher $^n/_{10}$-Na(OH) zugesetzt, und zwar in solcher Menge, daß die Flüssigkeitsmenge $^1/_2$ % war. In dieser Menge stört das Alkali den normalen Ablauf der Autolyse nicht. Die Kontrollen erhielten selbstverständlich die gleiche Menge Alkali. Die Jodierung wurde bei 40° vorgenommen, das Jod wurde so lange zugesetzt, bis es nicht mehr an Eiweiß gebunden wurde. Der Rest des freien Jods wurde dann durch eine etwa 6%ige Natriumthiosulfatlösung entfernt. Manchmal wurde die Jodierung nicht so weitgehend vorgenommen. Nach Zusatz von Toluol wurde der Brei bei 37° autolysiert. Der autolysierte Leberbrei wurde dann nach einigen Tagen koaguliert und der nicht koagulable N nach Kjeldahl bestimmt.

Versuch 1.

Proben:

a) 120 ccm Leberaufschw. + $^n/_{10}$-NaOH + 47 ccm Lugolsche Lösung;
b) 120 ccm „ + $^n/_{10}$-NaOH + 23½ ccm „ „
c) 120 ccm „ + entsprechende Menge 0,8%-NaCl (Kontrolle).

Versuch 2.

a) 100 ccm Leberaufschw. + $^n/_{10}$-NaOH + 0,8 % NaCl (Kontrolle);
b) 100 ccm „ + $^n/_{10}$-NaOH + 51 ccm Lugolsche Lösung.

Versuch 3.

a) 30 g Leberbrei + $^n/_{10}$-NaOH + 15 ccm Lugolsche Lösung;
b) 30 g „ + $^n/_{10}$-NaOH + 0,8 % NaCl (Kontrolle).

Tabelle I.

Versuch	Proben	Inkoagulables N entsprechend $^n/_{10}$-HCl		Dauer der Autolyse
1	a	174 ccm		
	b u. c	138 „	119 ccm	5 Tage
2	a u. b	142 „	79 „	6 Tage
3	a u. b	129 „	96 „	50 Stunden

Aus der Tabelle ersieht man, da die N-Mengen bei den jodierten Proben erhöht sind, daß die Jodierung die Autolyse beschleunigt. Die Differenz ist erheblich. Es muß bemerkt werden, daß vorherige Jodierung die Koagulation des Eiweißes durch Kochen nicht beeinflußt.

B. Autolyse von Kaninchenleber nach intravenöser Injektion von Lugolscher Lösung.

In Rücksicht auf die therapeutische Verwendung von Jod war es von Interesse, den Einfluß des in den Organismus eingeführten Jodes auf die Autolyse zu untersuchen.

Kaninchen von ungefähr gleichem Gewicht wurden intravenös Jod-Jodkalilösung in einer größeren Menge physiologischer NaCl-Lösung injiziert.

Die Tiere wurden durch Genickschlag getötet und jede Leber auf die Stärke der Autolyse geprüft.

Versuch 1.

Kaninchen Nr.	Gewicht		
380	1800 g:	3 ccm Lugol. Intravenös.	Nach 5 Std. getötet.
269	2020 g:	6 ccm Lugol. Subcutan.	Nach 24 Std. getötet.
195	2430 g:	6 ccm Lugol. Intravenös.	Nach 5 Std. getötet.
303	2590 g:	12 ccm Lugol. Intravenös.	
150	2590 g:	Kontrolle. Normal. Kaninchen.	

Versuch 2.

Kaninchen Nr.	Gewicht		
38	2850 g:	6 ccm Lugol. Intravenös.	Nach 6 Std. getötet.
234	2770 g:		
15	2770 g:	Kontrolle. Normal. Kaninchen.	

Die folgenden Tabellen zeigen, daß die Leber der Kaninchen, das Jod-Jodkaliumlösung bekommen hat, stärker autolysiert, als die Leber der Kontrolltiere.

Dasselbe Resultat erzielte ich auch bei subcutaner Einführung von Jod-Jodkaliumlösung.

Tabelle II.

Versuch	Kaninchen Nr.	Dauer der Autolyse	Inkoagulabler N entsprechend $^n/_{10}$-HCl [1])	
			von behandelten Kaninchen	von nicht behandelt. Kaninchen
1	380	5 Tage	156 ccm	—
	269	5 „	127 „	—
	195	5 „	166 „	—
	303	5 „	241 „	—
	150	5 „	—	76 ccm
2	38	60 Stunden	110 ccm	—
	234	60 „	116 „	—
	15	60 „	—	83 ccm

[1]) In jeder Probe je 30 g Leberbrei.

Tabelle III.

Kaninchen Nr.	Intravenöse Injektion von Lugol	Gestorben nach	Inkoagulabler N entsprechend $^n/_{10}$-HCl [1])	Dauer d. Autolyse
Kontroll-Norm	—	—	76 ccm	15 Std.
168	12 ccm	2 Std.	42 „	15 „
181	12 „	2 „	22 „	15 „
38 a	15 „	$^1/_2$ „	60 „	52 „
38 b	15 „	$^1/_2$ „	56 „	52 „
81 a	15 „	20 Min.	63 „	52 „
81 b	15 „	20 „	61 „	52 „

Die Kaninchen 195 und 303 in Versuch 1 zeigen, daß die Stärke der Autolyse mit der Jodmenge steigt. Diese Beobachtungen treffen aber lediglich für solche Fälle zu, bei denen die Kaninchen die Einspritzung anstandslos vertrugen.

Wie die Tabelle III zeigt, starben einige Tiere. Hier war die Autolyse, die sofort nach dem Tode eingeleitet wurde, nicht verstärkt, sondern sogar etwas gehemmt. Man sieht somit, daß die Menge der eingeführten Jod-Jodkaliumlösung die tödliche Dosis nicht überschreiten darf, wenn die Autolyse gesteigert sein soll. Die Kaninchen verhielten sich in bezug auf die verwandte Dosis von 12 ccm recht verschieden.

II.

A. Leberautolyse mit und ohne Zusatz von Jodkalium in vitro.

In mehreren Proben von je 30 g Leberbrei wurden gleiche Mengen von 2%iger Jodkaliumlösung zugesetzt. In den Kontrollen dagegen 0,8 % NaCl.

Versuch 1.

Proben:

a) 30 g Kaninchenleberbrei + $^n/_{10}$-NaOH + 15 ccm KJ 2%;
b) 30 g „ + $^n/_{10}$-NaOH + 15 ccm KJ 2%;
c) 30 g „ + $^n/_{10}$-NaOH + 0,8% NaCl.

Versuch 2.

Proben:

a) 30 g Kaninchenleberbrei + $^n/_{10}$-NaOH + 15 ccm KJ 2%;
b) 30 g „ + $^n/_{10}$-NaOH + 15 ccm KJ 2%;
c) 30 g „ + $^n/_{10}$-NaOH + 0,8% NaCl.

Die Versuche zeigen, daß Jodkaliumlösung unter diesen Versuchsbedingungen die Autolyse nicht beeinflußt. Im Gegenteil, es scheint eine geringe Hemmung einzutreten. Bei der

Tabelle IV.

Versuch	Proben	Inkoagulabler N entspr. $^n/_{10}$-HCl mit Jodkali	Inkoagulabler N entspr. $^n/_{10}$-HCl ohne Jodkali	Dauer der Autolyse
1	a	87 ccm	—	50 Stunden
	b	89 „	—	
	c	—	96 ccm	
2	a	86 ccm	—	4 Tage
	b	87 „	—	
	c	—	106 ccm	

Autolyse in vitro wird freies Jod nicht abgespalten. Ich habe nach dieser Richtung hin Versuche angestellt und kein Jod nachweisen können.

B. Autolyse der Kaninchenleber nach Injektion von Jodkaliumlösung.

Es war nun von Interesse zu untersuchen, wie die Jodsalze, die, wie wir gesehen haben, die Autolyse bei der Vermischung des Leberbreies in vitro nicht beeinflussen, wirken, wenn sie dem Tiere eingespritzt werden.

Mehrere Kaninchen bekamen gleiche Mengen von 2% Jodkaliumlösung intravenös.

Nach verschiedenen Zeitintervallen wurden die Kaninchen getötet und die Leber zur Autolyse verarbeitet. Die Leber von zwei normalen Kaninchen diente als Kontrolle.

Versuch 1.

Kaninchen Nr. Gewicht

38 1370 g: 6 ccm Jodkali. Intravenös. Nach 2 Std. getötet.
400 1510 g: 6 „ „ „ „ 6 „ „
133 200 g: 6 „ „ „ „ 24 „ „
235 200 g: Kontrolle } Normal. Kaninchen.
125 200 g: „ }

Tabelle V.

Kaninchen Nr.	Inkoagulabler N entspr. $^n/_{10}$-HCl[1]) von behandelten Kaninchen	Inkoagulabler N entspr. $^n/_{10}$-HCl[1]) von nicht behandelt. Kaninchen	Dauer der Autolyse
38	167 ccm	—	5 Tage
400	221 „	—	
133	229 „	—	
235	—	139 ccm	
125	—	138 „	

[1]) In jeder Portion je 50 g Leberbrei.

Wie wir sehen, war die Autolyse bei mit Jodsalzen behandelten Tieren stark beschleunigt. Diese Beobachtungen bestätigen Befunde von Stookey[1]), der fand, daß die Organe von Hunden, die längere Zeit unter Gebrauch von KJ standen, eine erhöhte Autolyse aufwiesen, und zwar am ausgesprochensten in der Leber und Niere.

Die Erhöhung der autolytischen Kraft der Gewebe nach Einführung von Jodsalzen beansprucht ein um so größeres Interesse, weil sie geeignet erscheint, die therapeutische Bedeutung des Jods zu erklären.

Aus dem Vorhergehenden ersieht man, daß KJ im Gegensatz zur Jod-Jodkaliumlösung die Autolyse in vitro nicht verstärkt, ja im Gegenteil eine geringe Hemmung hervorruft. Man sieht demnach, daß freies Jod notwendig ist, um die Autolyse in vitro zu verstärken, während bei der in vivo vorgenommenen Einspritzung bereits die Jodsalze die spätere Autolyse deutlich beeinflussen Der Organismus hat demnach die Eigenschaft, die in vitro unwirksamen Jodsalze wirksam zu machen, und es liegt die Möglichkeit vor, daß diese Aktivierung durch Freiwerden des Jods in vivo zustande kommt. Diese Vorstellung harmoniert mit der von Pharmakologen vertretenen Annahme, daß der Organismus aus den Jodsalzen freies Jod abspaltet[2]).

Auf welche Weise das Freiwerden des Jods im Organismus zustande kommt, ob unter dem Einfluß von Kohlensäure (Kämmerer[3]) ($KJ + CO_2 + H_2O = HK CO_3 + HJ$), oder ob bestimmte Substanzen nötig sind, die das Freiwerden des Jods bedingen, darüber geben die Versuche keinen Aufschluß. Es schien aber von Interesse, der von Hirschfeld ausgesprochenen Vermutung, daß die Jodüberempfindlichkeit darauf beruhen könne, daß solche Substanzen durch Vorbehandlung mit Jodsalzen vermehrt werden können, experimentell nachzugehen. Die von mir gefundene Tatsache, daß Injektion von Jodsalzen die Autolyse verstärkt, schien geeignet zu sein, aus der Stärke der Autolyse Rückschlüsse auf die Mengen von jodspaltenden Substanzen zu ziehen.

---

[1]) Proc. soc. of Experim. Biol. a. Med. 5, 119, zit. nach Malys Jahresber. 38, 442.

[2]) Meyer-Gottlieb.

[3]) Malys Jahresber. 4.

C. Autolyse der Leber von mit KJ vorbehandelten Kaninchen.

Kaninchen von gleichem Gewicht wurden wiederholt in Intervallen von 4 bis 5 Tagen intravenös mit 2%iger KJ-Lösung vorbehandelt. 10 Tage nach der letzten Einspritzung erhielten diese Kaninchen gleichzeitig mit nicht vorbehandelten KJ-Lösung injiziert. Nach bestimmter Zeit wurden vorbehandelte und nur einmal injizierte Tiere zur Untersuchung der Leberautolyse verwandt (je 30 g).

Versuch 1.

Kaninchen Nr.	Gewicht	
382	2970 g	Intravenöse Injektion mit KJ 2% am 1. VII., 6. VII., 11. VII. je 3 ccm, am 15. VII., 19. VII. je 5 ccm.
479	2700 g	
174	2300 g	

Kontroll-Kaninchen Nr.	Gewicht	
216	2550 g	Einmalige intravenöse Injektion am 28. VII.
489	2250 g	
187	2450 g	

Am 28. VII: Alle Kaninchen wurden mit gleichen Mengen (5 ccm) Jodkali 2% injiziert und ein Paar nach 1 Stunde, ein zweites Paar nach 6 Stunden und ein drittes Paar nach 24 Stunden getötet.

Versuch 2.

Kaninchen Nr.	Gewicht	
215	1350 g	Intravenöse Injektion von 2% Jodkali am 21. VIII., 24. VIII., 29. VIII., 2. IX. je 2½ ccm.
272	1270 g	
257	1570 g	
38	1640 g	
234	1570 g	

Kontroll-Kaninchen Nr.	Gewicht	
216	1530 g	Einmalige Injektion.
233	1500 g	

Am 13. IX. (nach einer Zwischenzeit von 11 Tagen) haben sämtliche Kaninchen, außer Nr. 38, je 2% Jodkali intravenös injiziert bekommen.

Tabelle VI.

Getötet nach	Inkoagulables N entsprechend $^n/_{10}$-HCl[1]) vorbehandelte Kaninchen	einmal injizierte Kaninchen	Dauer der Autolyse	Versuch Nr.
1 Stunde	81 ccm	83 ccm	3 Tage	1
6 Stunden	116 „	98 „		
24 „	96 „	75 „		
6 „	151 „ / 134 „	93 „	3 „	2
24 „	138 „ / 145 „	89 „		

[1]) In jeder Probe je 30 g Leberbrei.

Die Tabelle zeigt, daß die vorbehandelten Kaninchen einen stärkeren Grad der Autolyse aufweisen als die Kontrolltiere. Es ist bemerkenswert, daß die Autolyse des vorbehandelten Tieres, das bereits eine Stunde nach der Einspritzung getötet wurde, keinen wesentlichen Unterschied gegenüber dem Kontrolltier aufweist.

Man könnte daran denken, daß die gesteigerte Autolyse bei mit Jodsalzen vorbehandelten Tieren auf Retention von Jod beruht. Ich habe daher nach der Methode von Volhard[1]) in der Leber von Kaninchen Nr. 38 das Jod bestimmt. Die Methode ist folgende: Die Leber wird vollkommen getrocknet und mit trockener Mischung von ein Teil kohlensaurem Natron und zwei Teilen Natronsalpeter vermengt, im Verhältnis von ein Teil trockener Organsubstanz zu etwa 40 Teilen Salzmischung. Dieses Gemisch wird im Porzellantiegel langsam erhitzt und zum Schmelzen gebracht. Nachdem die Schmelze weich geworden, wird sie in Wasser gelöst und in einen Zylinder von 100 ccm Inhalt filtriert. Nach dem Erkalten wird das Filtrat mit Schwefelsäure stark angesäuert und mit einigen Tropfen 1%iger Natriumnitritlösung versetzt. Das in Freiheit gesetzte Jod wird mit Schwefelkohlenstoff ausgeschüttelt.

Die Untersuchung ergab kein Jod in der Leber. Die zehntägige Pause ist demnach vollkommen ausreichend, um das Jod aus der Leber zu entfernen. Man muß daher annehmen, daß der Organismus durch die Behandlung mit Jodsalzen in verstärktem Maße auf die Injektion von Jodsalzen reagiert. Ob diese größere Beeinflußbarkeit durch Jod auf Bildung von bestimmten Substanzen beruht, ob diese Substanzen spezifisch gegen Jodsalze gerichtet sind, darüber geben die Versuche keinen sicheren Aufschluß. Ich habe daher in mehreren Versuchen das Serum von vorbehandelten Tieren zum Leberbrei mit Zusatz von KJ zugefügt, um diese Möglichkeit zu prüfen.

D. Kaninchenleber-Autolyse mit Jodkali unter Einfluß von Serum von mit KJ vorbehandelten Kaninchen.

Versuch 1.

Proben:

a) 30 g Leberbrei + 10 ccm Ser. Nr. 215 + $^n/_{10}$-NaOH + 15 ccm Jodkali 2%;
b) 30 g „ + 10 ccm „ Nr. 234 + $^n/_{10}$-NaOH + 15 ccm „ 2%;

[1]) Annal. d. Chem. **161**, 40, zit. nach Takemann, Zeitschr. f. physiol. Chem. **72**, 78.

c) 30 g Leberbrei + 10 ccm Ser. Nr. 38 + $^n/_{10}$-NaOH + 15 ccm Jodkali 2%;
d) 30 g „ + 10 ccm Normalserum + $^n/_{10}$-NaOH + 15 ccm „ 2%;
Sera Nr. 215, 234, 38 sind von vorbehandelten Kaninchen.

Tabelle VII.

Proben	Inkoagulabler N entsprechend $^n/_{10}$-HCl.	Dauer der Autolyse
a	98 ccm	4 Tage
b	99 „	
c	91 „	
d	89 „	

Wenn wir die Zahlen vergleichen, so sehen wir, daß eine geringe Differenz besteht. Da die Versuche nicht zahlreich genug sind, will ich keine bestimmte Schlußfolgerung daraus ziehen, möchte aber bemerken, daß der sichere Nachweis von jodabspaltenden Substanzen, die durch Vorbehandlung vermehrt werden können, für die Immunität von prinzipieller Bedeutung ist.

III.

Lyse jodierter und nicht jodierter Kaninchenleber unter Einfluß von Trypsin.

Da der autolytische Prozeß einige Ähnlichkeit mit der Pankreatinwirkung aufweist, habe ich zum Vergleich mit der Leberautolyse auch Pankreatin auf Lebergewebe einwirken lassen und untersucht, welche Veränderung der Wirkung durch Jod zu beobachten ist.

Versuch 1.

Proben:

a) 30 g Kaninchenleberbrei + $^n/_{10}$-NaOH + 15 ccm Lugolsche Lösung + 10 ccm Trypsin 1%;
b) 30 g Kaninchenleberbrei + $^n/_{10}$-NaOH + 15 ccm Lugolsche Lösung;
c) 10 ccm Trypsin 1% + 0,8%iges NaCl;
d) 30 g Kaninchenleberbrei + $^n/_{10}$-NaOH + 10 ccm Trypsin;
e) 30 g „ + $^n/_{10}$-NaOH;
f) 10 ccm Trypsin 1% + 0,8%iges NaCl.

Proben b und c, e und f wurden unmittelbar vor der Bestimmung vereinigt.

Versuch 2.

Proben:

a) 30 g Kaninchenleberbrei + $^n/_{10}$-NaOH + 15 ccm Lugolsche Lösung + 10 ccm Trypsin; sofort vereinigt.
b) 30 g Kaninchenleberbrei + $^n/_{10}$-NaOH + 15 ccm Lugolsche Lösung + 10 ccm Trypsin; nach 48 Stunden vereinigt.

c) 30 g Kaninchenleberbrei + $^n/_{10}$-NaOH + 10 ccm Trypsin; sofort vereinigt.

d) 30 g Kaninchenleberbrei + $^n/_{10}$-NaOH + 10 ccm Trypsin; nach 48 Stunden vereinigt.

Alle Proben von Leberbrei in den Versuchen 1 und 2 wurden im Dauerbade auf 95° erhitzt. Das Jodieren geschah vor dem Erhitzen.

Tabelle VIII.

Versuch	Inkoagulabler N entsprechend $^n/_{10}$-HCl.				Dauer der Lyse
	Jodierter Leberbrei + Trypsin vereinigt		Nicht jodierter Leberbrei + Trypsin vereinigt		
	sofort	nach 2 Tagen	sofort	nach 2 Tagen	
1	89 ccm	34 ccm	156 ccm	39 ccm	48 Std.
2	78 „	34 „	116 „	39 „	
	73 „	34 „	120 „	39 „	

Die Versuche zeigen, daß die Pankreatinwirkung im Gegensatz zur Autolyse durch Zusatz von J nicht gesteigert, sondern erheblich herabgesetzt worden ist.

IV.

Bestimmung des antitryptischen Index nach intravenöser Injektion von Jodkalium und von Lugolscher Lösung.

Da bei Gewebszerfall der antitryptische Index des Blutserums gesteigert ist, habe ich untersucht, welche Veränderungen im Antitrypsingehalt nach der Einspritzung von Jod und Jodkalium auftreten. Ich bediente mich dabei der Methode von Groß-Fuld (beschrieben bei Bergmann und Meyer, Berl. klin. Wochenschr. 1908, 37). Der Index ist jeweils nach der Formel von Jakob berechnet (Münch. med. Wochenschr. 1909, 27).

	Antitryptischer Index			
Kaninchen	216	233	415	257
vor Injektion Injektion	50% 4 ccm KJ	50% 4 ccm KJ	50% 4 ccm Lugol	50% 4 ccm Lugol
nach				
2 Tagen	80%	60%	100%	80%
3 „	100%	100%	150%	100%
4 „	60%	60%	80%	60%

Die Ergebnisse zeigen eine erhebliche Steigerung des Index in den ersten Tagen nach der Injektion von J oder KJ.

Zusammenfassung.

1. Zusatz von Jod hat eine erhebliche Steigerung der Leberautolyse zur Folge.

2. Zusatz von KJ erhöht die Autolyse nicht.

3. Injektion von Lugolscher Lösung hat verstärkte Leberautolyse zur Folge, wenn die Leber 6 bis 24 Stunden nach der Einspritzung entnommen wird. Nur wenn die Tiere der Injektion erliegen, ist eine Verstärkung der Autolyse nicht zu konstatieren.

4. Einspritzung von Jodkalium wirkt in gleicher Weise steigernd auf den autolytischen Prozeß ein.

5. Länger dauernde Vorbehandlung der Kaninchen mit Einspritzungen von Jodkalium hat eine noch weitgehendere Steigerung der Leberautolyse nach der Entnahme zur Folge.

6. Das Serum der mit Jodkalium vorbehandelten Tiere hat, mit KJ vereinigt, auch eine geringe Steigerung zur Folge.

7. Die Spaltung des auf 95° erhitzten Lebergewebes durch Pankreation (Merck) wird durch Zusatz von Jod nicht erhöht, sondern herabgesetzt.

8. Der antitryptische Index steigt nach der Injektion von Jod und Jodkalium.

Zur Kenntnis der Milzenzyme.

Von

Tamio Tanaka (Nagasaki).

(Aus der biochemischen Abteilung des Rudolf-Virchow-Krankenhauses zu Berlin.)

(Eingegangen am 17. Oktober 1911.)

Die physiologischen Leistungen der Milz sind noch wenig aufgeklärt.

Die Tiere und Menschen vertragen die Milzexstirpation ohne jeden auffälligen Schaden. Paton[1]) beobachtete bei Hunden durch die Milzentnahme keine auffallende Beeinflussung des Stoffwechsels, außer rascherer Ausscheidung des Wassers. Mendel und Jackson[2]) sahen keinen Einfluß auf die Harnsäureausscheidung. Marcantonio[3]) hingegen will Polyurie, abnorme Fettbildung und Vermehrung des Harnindikans nachgewiesen haben. Nach einigen Autoren soll die Milz einen Einfluß auf die Verdauung ausüben. Mehrfach wird eine Volumzunahme der Milz nach der Nahrungsaufnahme erwähnt. Von Schiff[4]), Herzen[5]) und in neuerer Zeit von Levene und Stookey[6]) u. a. werden Beziehungen der Milz zum Pankreassaft, insbesondere zum Trypsin hervorgehoben. Ciofone und Gallerani[7]) halten die Milz für eine Drüse mit innerer Sekretion; sie stellten die Gegenwart von amylolytischen, proteolytischen und steatolytischen Enzymen fest. Sie glauben, daß die Milz auch das Leberenzym aktiviere, das die Umwandlung des Traubenzuckers der Vena porta in Glykogen besorgt.

Es scheint zweifellos, daß die Milz die Gesamtzusammensetzung des Blutes beeinflußt. Aber hinsichtlich der Beurteilung des Organs als

---

[1]) Journ. of Physiol. 25, 443.

[2]) Americ. Journ. of Physiol. 4, 165.

[3]) Zit. bei Seemann, Ergebn. d. Physiol. 8, 1.

[4]) Arch. f. d. ges. Physiol. 30, 295 (zit. von Herzen).

[5]) Arch. f. d. ges. Physiol. 30, 295 und 84, 115.

[6]) Americ. Journ. of Physiol. 12, 1.

[7]) Akad. d. Med. zu Turin. Ref. Münch. med. Wochenschr. 1902, Nr. 21.

eines blutbildenden Faktors herrscht keine Übereinstimmung. Freytag[1]) ist der Ansicht, daß die Milz als Blutfilter wirkt, und zwar durch die Elimination der alten Erythrocyten eine blutreinigende Funktion ausübe. Außerdem schreibt er ihr die Aufgabe zu, das Bluteisen der zugrunde gehenden Erythrocyten dem Organismus zu erhalten. Asher[2]) beobachtete eine erhöhte Eisenausscheidung bei milzfreien Hunden und hält deshalb die Milz für ein Organ des Eisenstoffwechsels. Großenbacher und Zimmermann[3]) schlossen sich dieser Ansicht an. Bayer[4]) fand an einem splenektomierten Menschen gleichfalls eine erhöhte Eisenausscheidung. Patricelli[5]), der fand, daß in die Blutbahn eingespritzte Saprophyten in der Milz zurückbehalten werden, hält sie für das eigentliche Filter des Blutes.

Mehrfach, aber nicht regelmäßig, ist nach Milzentfernung eine Vergrößerung der Lymphdrüsen beobachtet worden. Ferner hat man aus der Tatsache der Schwellung der Milz bei einigen Infektionskrankheiten auf bactericide Eigenschaften dieses Organs geschlossen, aber auch für diese Rolle der Milz fehlt ein sicherer Beweis.

Bei dieser Unklarheit, die über die Funktion der Milz herrscht, ist es wesentlich, zunächst das Tatsachenmaterial zu vergrößern. Im Anschluß an frühere Untersuchungen von Löb und Higuchi[6]) über die Enzyme der Placenta unternahm ich es deshalb auf Veranlassung des Herrn Prof. Löb, die Enzyme der Milz eingehend nach chemisch einwandfreien Methoden zu untersuchen, zumal die Beobachtungen früherer Forscher in dieser Richtung wenig zahlreich und nicht immer übereinstimmend sind. Ich richtete mein Augenmerk auf Katalasen, Oxydasen, proteolytische, tryptische, diastatische, invertierende und glykolytische Enzyme, sowie auf Lactase, Urease und Desamidase.

Experimenteller Teil.

Zur Untersuchung benutzte ich ein trockenes Pulver der Schweinemilz, das der chemischen Abteilung des Krankenhauses durch die Freundlichkeit des Leiters der Pankreatinabteilung der chemischen Fabrik „Rhenania" in Hamburg, Herrn Dr. Weber, in dankenswerter Weise zur Verfügung gestellt wurde. Die frisch entnommenen Organe waren nach der Zerkleinerung

[1]) Arch. f. d. ges. Physiol. 120, 517.

[2]) Centralbl. f. Physiol. 1908, Nr. 22, 375.

[3]) Diese Zeitschr. 17, 78.

[4]) Diese Zeitschr. 17, 297.

[5]) Ref. Centralbl. f. d. ges. Physiol. u. Pathol. d. Stoffwechsels. N. F. 5, 410.

[6]) Diese Zeitschr. 22, 316, 1909.

sorgfältig entblutet, bei niederer Temperatur ohne Antisepticum vorgetrocknet, mit kaltem Petroläther zweimal längere Zeit digeriert und ausgewaschen und bei 50° getrocknet. Durch Mahlen resultierte ein braungelbes Pulver, dessen alkoholische und wässerige Auszüge bei der spektroskopischen Prüfung sich als frei von Hämoglobin erwiesen.

Versuche.

1. Katalase und Oxydase.

Das Milzpulver zersetzt eine Wasserstoffsuperoxydlösung momentan unter starker Schaumbildung und ruft sofort intensive Blaufärbung in Gegenwart von Benzidin oder Guajak hervor. Auch die Aloinprobe verläuft stark positiv. Die Milz enthält also Katalase und Oxydase, deren erstere bereits von Rosenbaum[1]) beobachtet worden ist.

2. Kohlenhydrate abbauende Enzyme.

a) Diastatische Enzyme.

I. Spaltung der Stärke.

Das Vorhandensein eines diastatischen Enzyms in der Milz von Menschen haben Ciofone und Gallerani[2]) festgestellt. Auch die Milz von Hund, Katze, Meerschweinchen, Huhn, Fisch, Frosch und Ratte enthält nach Hirata[3]) dieses Enzym. In mehreren Versuchsanordnungen konnte ich mit dem Pulver der Schweinemilz die positiven Resultate bestätigen. Bezüglich der Bearbeitung verweise ich, wenn nichts Besonderes angegeben wird, auf die in der schon erwähnten Arbeit von Löb und Higuchi benutzten Methoden, die sich für die vorliegenden Fragen auch bei mir bewährt haben, und zwar kommen diejenigen Methoden in Betracht, die die genannten Forscher für das trockene Placentapulver angewandt haben. Auch bezüglich der analytischen Methoden kann ich auf jene Arbeit verweisen. Es genügt daher, die Versuche tabellarisch wiederzugeben. Sie alle beziehen sich, wenn besondere Daten fehlen, auf eine 24-stündige Versuchsdauer bei 37,5°. Die analytischen Resultate sind die experimentell gefundenen Werte ohne Umrechnung.

[1]) Festschr. Salkowski, Berlin 1904.
[2]) l. c.
[3]) Diese Zeitschr. 27, 375, 1910.

Sie beziehen sich in den zusammengehörigen Versuchsreihen natürlich auf gleiche Teile der einzelnen Versuchslösungen. Alle Versuchsreihen sind wiederholt geprüft worden. Die Daten der Tabelle I geben vier voneinander unabhängige Versuchsreihen wieder. Tabelle II gibt für eine Versuchsreihe die Zunahme der Kupferoxydulbildung aus Fehlingscher Lösung und die zur Kontrolle angestellten Osazonprüfungen wieder.

Tabelle I.

Nr.	Zusammensetzung der Mischung	Polarisationswerte in Grad			
1	0,5%ige Stärkelösung . . 50 ccm Pulver . . . . . 0,5 g Toluol . . . . . 0,5 ccm	0,35	0,34	0,32	0,33
2	Aq. dest. . . . . 50 ccm Pulver . . . . . 0,5 g Toluol . . . . . 0,5 ccm	0,00	0,00	0,00	0,00
3	0,5%ige Stärkelösung . . 50 ccm Toluol . . . . . 0,5 „	0,12	0,12	0,11	0,13

Tabelle II.

Nr.	Zusammensetzung der Mischung	Cu_2O g	Osazonbildung
1	0,5%ige Stärkelösung . . . 50 ccm Pulver . . . . . 0,5 g Toluol . . . . . 0,5 ccm	0,0943 0,0920 —	reichlich „ —
2	Aq. dest. . . . . 50 ccm Pulver . . . . . 0,5 g Toluol . . . . . 0,5 ccm	0,0064 0,0041 —	nichts „ —
3	0,5%ige Stärkelösung . . . 50 ccm Toluol . . . . . 0,5 „	0,0082 0,0074	nichts „

Die Ergebnisse zeigen, daß das Pulver der Schweinemilz eine stark wirkende Diastase enthält.

II.

a) Spaltung des Glykogens.

Nach den Feststellungen von Muskulus und v. Mehring[1]) verhalten sich die Diastasen Stärke und Glykogen gegenüber gleich. Es war daher auch hier ein positives Resultat zu erwarten, das die Prüfung, die genau nach den für die Stärkespaltung benutzten Vorschriften ausgeführt wurde, auch ergab.

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 2, 403, 1879.

Tabelle III.

Nr.	Zusammensetzung der Mischung	Cu_2O g	Osazonbildung
1	Glykogen . . . . . 0,2 g	0,0383	reichlich
	Pulver . . . . . 0,5 „	0,0395	„
	Aq. dest. . . . . 50 ccm	—	—
	Toluol . . . . . 0,5 „	—	—
2	Pulver . . . . . 0,5 g	0,0122	nichts
	Aq. dest. . . . . 50 ccm	0,0106	„
	Toluol . . . . . 0,5 „	—	—
3	Glykogen . . . . . 0,2 g	0,0121	nichts
	Aq. dest. . . . . 50 ccm	0,0125	„
	Toluol . . . . . 0,5 „	—	—

b) Spaltung des Inulins.

Das Verhalten des Schweinemilzpulvers gegenüber Inulin wurde nach der für Diastasen benutzten Technik geprüft, jedoch erwies es sich als zweckmäßig, die Einwirkungsdauer wegen der Schwerlöslichkeit und der Schwerspaltbarkeit des Inulins auf 3 bis 5 Tage zu erhöhen.

Tabelle IV.

Nr.	Zusammensetzung der Mischung	Cu_2O in g		
		nach 3 Tagen	nach 4 Tagen	nach 5 Tagen
1	Pulver . . . . 0,5 g	0,0141	0,0166	0,0136
	Inulin . . . . 0,5 „	0,0152	0,0147	0,0146
	Aq. dest. . . . 50 ccm	—	—	—
	Toluol . . . . 0,5 „	—	—	—
2	Pulver . . . . 0,5 g	0,0072	0,0073	0,0075
	Aq. dest . . . 50 ccm	0,0078	0,0091	0,0061
	Toluol . . . . 0,5 „	—	—	—
3	Inulin . . . . 0,5 g	0,0015	0,0011	0,0012
	Aq. dest. . . . 50 ccm	0,0012	0,0017	0,0011
	Toluol . . . . 0,5 „	—	—	—

Aus den Versuchen geht hervor, daß die Milz ein inulinspaltendes Enzym enthält.

c) Invertase.

Oppenheimer[1]) gibt an, daß Invertase in der Milz enthalten ist. Durch meine Versuche kann ich diese Angabe bestätigen.

[1]) Die Fermente und ihre Wirkungen 1910.

Tabelle V.

Nr.	Zusammensetzung der Mischung	Cu_2O in g und Osazonbildung					
		nach 2 Tagen		nach 3 Tagen		nach 4 Tagen	
1	Pulver . . 0,5 g	0,0105	reichlich	0,0133	reichlich	0,0106	reichlich
	Rohrzucker 0,25 g	0,0097	„	0,0138	„	0,0118	„
	Aq. dest. . 50 ccm	—	—	—	—	—	—
	Toluol . . 0,5 „	—	—	—	—	—	—
2	Pulver . . 0,5 g	0,0015	nichts	0,0017	nichts	0,0023	nichts
	Aq. dest. . 50 ccm	0,0023	„	0,0020	„	0,0016	„
	Toluol . . 0,5 „	—	—	—	—	—	—
3	Rohrzucker 0,25 g	0,0022	nichts	0,0028	nichts	0,0027	nichts
	Aq. dest. . 50 ccm	0,0025	„	0,0021	„	0,0022	„
	Toluol . . 0,5 „	—	—	—	—	—	—

d) Spaltung des Milchzuckers.

Nach Oppenheimer fehlt eine Lactase in der Milz. Nach meinen Versuchen ist diese Angabe richtig. Bei längere und wechselnde Zeit durchgeführten Versuchen ließ sich keine Änderung der Polarisationswerte beobachten; auch entstand kein Zucker, der durch Hefe innerhalb 24 Stunden zur alkoholischen Gärung zu bringen war.

e) Verhalten des Milzpulvers bei der Glykolyse.

Bei der Tatsache des relativ hohen Eisengehaltes der Milz und der Rolle, die das Eisen auch in organischer Bindung bei der Verbrennung des Traubenzuckers spielt[1]), schien es wünschenswert, das Milzpulver auf das Vorhandensein glykolytischer Wirkungen zu prüfen; vor allem in Gegenwart eines Oxydationsmittels, das wahrscheinlich für die normale Glykolyse eine notwendige Bedingung darstellt. Aus schon häufig erörterten Gründen wurde das Wasserstoffperoxyd gewählt, und zwar in solcher Menge, daß es trotz der Gegenwart der Katalasen nach beendigtem Versuch noch vorhanden war.

Die Resultate waren aber durchaus negativ.

Die Versuche wurden in folgender Weise ausgeführt. 2 g Milzpulver wurden mit 50 ccm 2%iger Traubenzuckerlösung und 50 ccm Wasser unter Zugabe von 1 ccm Toluol gemischt. 25 ccm des Filtrates wurden sogleich enteiweißt und auf ihr Reduk-

[1]) Vgl. Löb, Beiträge zur Glykolyse I. Diese Zeitschr. 29, 316, 1910.

tionsvermögen gegenüber Fehlingscher Lösung geprüft. Den Rest hielt ich bestimmte Zeiten im Thermostaten und untersuchte nach Beendigung der Einwirkung ihn in gleicher Weise auf sein Reduktionsvermögen. Genaueres über die Methodik findet sich in der Arbeit von Löb und Higuchi bei den Versuchen über die glykolytische Wirkung des Placentapulvers. In allen Fällen fand ich nach Beendigung der Versuche eine geringe Zunahme des Reduktionsvermögens, die wohl durch die Wasserverdunstung hervorgerufen war. Auch die Bestimmung der Polarisation ließ keine Abnahme des Traubenzuckergehaltes erkennen.

Tabelle VI.

Nummer		Dauer der Digestion											
		1 Tag		2 Tage		3 Tage		4 Tage		5 Tage		6 Tage	
		Cu_2O g	Polarisation °	Cu_2O g	Polarisation °	Cu_2O g	Polarisation °	Cu_2O g	Polarisation °	Cu_2O g	Polarisation °	Cu_2O g	Polarisation °
1	Vor der Digestion . . .	0,2013	0,25	0,2001	0,25	0,1991	0,25	0,2071	0,25	0,1997	0,25	0,2038	0,25
	Nach der Digestion . . .	0,2211	0,23	0,2498	0,23	0,2327	0,26	0,2740	0,23	0,2612	0,20	0,2758	0,21
	Differenz . . .	0,0198	—	0,0497	—	0,0336	—	0,0669	—	0,0615	—	0,0720	—
2	Vor der Digestion . . .	0,1983	0,25	0,2034	0,25	0,2025	0,25	0,1948	0,25	0,2016	0,25	0,2047	0,25
	Nach der Digestion . . .	0,2100	0,22	0,2392	0,24	0,2211	0,25	0,2639	0,24	0,2601	0,21	0,2687	0,22
	Differenz . . .	0,0117	—	0,0358	—	0,0186	—	0,0691	—	0,0585	—	0,0640	—
3	Vor der Digestion . . .	0,2043	0,25	0,1948	0,25	0,1977	0,25	0,2046	0,25	0,2095	0,25	0,2060	0,25
	Nach der Digestion . . .	0,2104	0,23	0,2271	0,24	0,2428	0,26	0,2538	0,23	0,2713	0,20	0,2763	0,20
	Differenz . . .	0,0057		0,0323	—	0,0451	—	0,0492	—	0,0618	—	0,0697	—

Auch der Zusatz von Wasserstoffperoxyd bewirkte keine Glykolyse. Milzpulver, Traubenzucker und Peroxydlösung wurden in den aus Tabelle VII ersichtlichen Mengenverhältnissen gemischt und mit Kontrollversuchen der 24stündigen Einwirkung der Brutemperatur unterworfen. Alle Proben zeigten nach Beendigung der Digestion mit Jodkalium und verdünnter Salzsäure noch die Gegenwart von Wasserstoffperoxyd an. Die Resultate gibt die folgende Tabelle wieder.

Tabelle VII.

Nr.	Zusammensetzung der Mischung	Nach 1 Tag		Nach 2 Tagen	
		Cu_2O g	Polarisation °	Cu_2O g	Polarisation °
1	Pulver . . . . . 1 g	0,2242	0,51	0,2174	0,45
	5%ige Traubenzuckerlösung . 25 ccm	0,2177	0,50	0,2171	0,50
	3%ige H_2O_2-Lösung . . . . . 25 „	—	—	—	—
2	Pulver . . . . . 1 g	0,0016	0,00	0,0018	0,00
	3%ige H_2O_2-Lösung . . . . . 25 ccm	0,0013	0,00	0,0016	0,00
	Aq. dest. . . . . 25 „	—	—	—	—
3	5%ige Traubenzuckerlösung . 25 ccm	0,2167	0,50	0,2145	0,51
	3%ige H_2O_2-Lösung . . . . . 25 „	0,2158	0,51	0,2207	0,52

Es ließ sich demnach keinerlei glykolytische Wirkung durch das Schweinemilzpulver erzielen.

3. Fettspaltende Enzyme (Lipasen).

Ciofone und Gallerani[1]) geben an, daß die Milz ein steatolytisches Enzym enthält. Meine Versuche führte ich in der Art aus, daß ich 1 g Milzpulver mit 30 ccm Wasser im Mörser innig verrieb, einen Teil der Mischung zur Zerstörung des Enzyms aufkochte (a), den anderen Teil (b) zur entscheidenden Prüfung wählte. Zu dem Zweck wurden 5 g Butter mit 15 ccm lauwarmem Wasser geschüttelt, einige Tropfen Rosolsäurelösung und dann so viel $^n/_{10}$-Natronlauge hinzugesetzt, daß die Emulsion deutlich rot blieb. Sodann wurden gleiche Teile dieser Emulsion mit den Milzpulvermischungen a und b versetzt und durch tropfenweisen Zusatz einer verdünnten Sodalösung eine deutlich alkalische Reaktion herbeigeführt. Das ist notwendig, weil das Milzpulver durch seinen Peptongehalt dem Wasser eine saure Reaktion erteilt. Schließlich wurde durch Zugabe von 1% Toluol die Bakterienwirkung ausgeschaltet. Nach 24stündigem Stehen im Brutschrank hatte die gekochte Probe a ihre rote Farbe nicht verändert, während das Filtrat von b durch Bildung von Buttersäure gelb geworden war. Bei dieser Probe konnte erst durch Zugabe von 49 ccm $^n/_{10}$-Natronlauge der Umschlag in rot erzielt werden.

[1]) l. c.

Im Pulver der Schweinemilz ist also eine stark wirkende Lipase enthalten.

4. Eiweißspaltende Enzyme.

Bei dem von verschiedenen Forschern behaupteten Einfluß der Milz auf die Verdauung ist die Untersuchung auf eiweißspaltende Enzyme besonders wichtig.

So gibt Schiff[1]) an, daß durch Entfernung der Milz der Pankreassaft seine eiweißverdauenden Eigenschaften einbüße. Herzen[2]) ist der Ansicht, daß die Milz durch innere Sekretion eine unbekannte Substanz absondere, die die unwirksame Vorstufe des Trypsins, Protrypsin, in wirksames Trypsin umwandelt. Pachon und Gachet[3]) bestätigen auf Grund ihrer Versuche an Hunden diese Angabe. Popielski[4]) behauptet hingegen, daß die Milzexstirpation bei Katzen und Hunden die Absonderung der Pankreasfermente nicht im geringsten beeinflusse.

Hedin und Rowland[5]) glauben, daß die Milz von Rind, Pferd, Schaf und Schwein ein proteolytisches Enzym enthält, das nicht mit dem Trypsin identisch ist. Hedin[6]) stellte später in der Milz des Rindes zwei proteolytische Enzyme fest, α-Protease, die hauptsächlich in alkalischer Lösung wirkt, β-Protease, die nur bei saurer Reaktion des Mediums verdaut. Tarulli und Pascucci[7]) fanden nach Milzexstirpationen die Pepsinverdauung des Magens abgeschwächt oder aufgehoben. Durch Einführung des Infuses einer während der Verdauung entnommenen Milz gelang es, wieder eine normale Pepsinverdauung hervorzurufen. Auch Betti[8]) glaubt aus seinen Tierversuchen schließen zu können, daß der Milzsaft eines in voller Verdauung getöteten Tieres irgendein die Magenverdauung förderndes Fermentenzym enthalten muß. Dasselbe entstammt nach Bettis Ansicht wahrscheinlich den bei der Verdauung in der Milz in großen Mengen sich anhäufenden Leukocyten. Die Wirkung dieses Enzyms trat nur gegenüber rohem Fibin ein. Groß[7]) beobachtete Pepsinschwund beim Menschen nach Milzexstirpation und vermutet in der Milz eine pepsinogene Substanz, die durch den Blutkreislauf in den Magen gelangt und dort die Pepsinbildung erst ermöglicht.

---

[1]) l. c.

[2]) l. c.

[3]) Arch. de Physiol. 30, 363. Zit. bei Seemann, Ergebnisse der Physiol. 3, 1.

[4]) Zit. bei Seemann, l. c.

[5]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 31, 341; 32, 531.

[6]) Journ. of Physiol. 30, 155.

[7]) Zit. bei Groß in Verhdl. d. Deutsch. Kongr. f. inn. Med. 1911, 605.

[8]) Centralbl. f. d. ges. Physiol. u. Pathol. d. Stoffw. N. F. 5, 305.

Im Gegensatz zu diesen Ansichten nimmt Silvestri[1]) an, daß die Milz nur mechanisch die Blutmenge des Pankreas und Darmes reguliert und dadurch einen Einfluß auf die Absonderung der Bauchspeicheldrüse ausübt. In einer späteren Arbeit[2]) betrachtet er die Milz als ein blutbildendes Organ, das mächtig zur Produktion der digestiven Hyperleukocytose beiträgt. Die Leukocyten sollen dann das pankreatische Zymogen in Trypsin und wahrscheinlich auch das Pepsinogen in Pepsin verwandeln. Prym[3]) kam durch Versuche an Hunden mit permanenter Pankreasfistel zum Schluß, daß die Milz für die tryptische Funktion des Pankreas vollständig belanglos ist. Die Verstärkung der tryptischen Verdauung durch Pankreassaft nach Zugabe von Milzinfus führt er nicht auf eine spezifische Wirkung der Milz, sondern auf den Bakterien- und Wassergehalt des Infuses zurück. Bei Hunden konnte er durch Milchexstirpation eine Beeinflussung der peptischen Verdauung in keiner Weise feststellen.

Aus allen diesen widerspruchsvollen Angaben geht hervor, daß das zur Beurteilung erforderliche Tatsachenmaterial noch nicht genügend sichergestellt ist. Es war daher geboten, zunächst einmal zu ermitteln, welche auf den Eiweißbau wirkenden Enzyme in der Milz enthalten sind.

Zu dem Zwecke prüfte ich das Milzpulver auf seinen Gehalt an peptisch wirkenden Enzymen — Spaltung von Albuminen zu Albumosen —, an tryptisch wirkenden Enzymen — Spaltung von Pepton bis zum Tyrosin — und auf Erepsinwirkung; im Anschluß daran weiter noch auf Desamidasen und Ureasen.

Zum Nachweis einer Pepsinwirkung benutzte ich reinstes Casein, das in den in der Tabelle angegebenen Mengenverhältnissen mit den Kontrollproben 24 bis 48 Stunden der Einwirkung des Milzpulvers im Brutschrank ausgesetzt wurde. Nach Beendigung der Versuche reagierten die Filtrate der mit Pulver versetzten Mischungen sauer. Die ohne Pulver angesetzte Probe blieb neutral. Das Filtrat des Hauptversuches zeigte deutlich Biuretreaktion, während die caseinfreie Mischung ganz schwache, die milzpulverfreie, aber Casein enthaltende Mischung kaum merkliche Biuretreaktion gab. Je 10 ccm der Filtrate wurden nach Kjeldahl auf den Gehalt an gelöstem Stickstoff geprüft.

---

[1]) Ref. Münch. med. Wochenschr. 1901, Nr. 28.
[2]) Ref. Münch. med. Wochenschr. 1903, Nr. 12.
[3]) Arch. f. d. ges. Physiol. 104, 433.

Tabelle VIII.

Nr.	Zusammensetzung der Mischung	Verbrauchte $^n/_{10}$-H_2SO_4 in ccm			
		nach 1 Tag		nach 2 Tagen	
1	Pulver . . . . 0,5 g	5,2	5,0	8,5	9,2
	Casein . . . . 0,5 „	—	—	—	—
	Aq. dest. . . . 50 ccm	—	—	—	—
	Toluol . . . . 0,5 „	—	—	—	—
2	Pulver . . . . 0,5 g	3,2	3,1	5,2	4,1
	Aq. dest. . . . 50 ccm	—	—	—	—
	Toluol . . . . 0,5 „	—	—	—	—
3	Casein . . . . 0,5 g	0,4	0,6	0,6	0,8
	Aq. dest. . . . 50 ccm	—	—	—	—
	Toluol . . . . 0,5 „	—	—	—	—

Die peptische Wirksamkeit der Schweinemilz ist durch diese Versuche sichergestellt.

Zur Untersuchung der Trypsinwirkung diente die Bildung von Tyrosin aus Seidenpepton. Von dem letzteren wurden 5 ccm seiner 20%igen Lösung mit 0,5 g Milzpulver und einigen Tropfen 0,2%iger Sodalösung, bis schwach alkalische Reaktion erzielt war, versetzt, und nach Zugabe von 0,1 ccm Toluol 24 Stunden im Brutschrank gehalten. Nach Zugabe einiger Tropfen Essigsäure und von Wasser wurde aufgekocht, heiß filtriert, das Filtrat bis auf 2 ccm eingedampft, stark abgekühlt und zentrifugiert. Es entstand eine relativ sehr reichliche Kristallisation von Tyrosin, dessen Identität durch seine bekannten Eigenschaften sichergestellt wurde.

Zur Kontrolle stellte ich auch einige Versuche mit Glycyltryptophan an, das in gebrauchsfertigem Zustand von Kalle & Co. in Biebrich bezogen wurde. Durch 0,3 g Milzpulver trat in 24 Stunden weitgehende Spaltung ein, die durch die bekannte Bromreaktion nachgewiesen wurde.

Die Gegenwart von tryptisch wirkendem Enzym in der Schweinemilz ist hierdurch bewiesen.

Die Prüfung auf das Vorhandensein eines Erepsins geschah in der von Löb und Higuchi in ihrer Placentaarbeit beschriebenen Weise. Die von Jacoby[1]) und Rosell[2]) angegebene Methode beruht darauf, daß die Abnahme der

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 30, 135, 1900.

[2]) Dissertation, Straßburg 1901.

Biuretreaktion bei Verwendung von Witte Pepton in sodaalkalischer Lösung verfolgt wird. 3 g Milzpulver wurden mit 300 ccm Wasser 2 Stunden lang auf der Maschine geschüttelt. Das Filtrat der Mischung versetzte ich nach 12stündigem Stehen im Kühlraum und nochmaliger Filtration tropfenweise mit verdünnter Uranacetatlösung, solange noch ein Niederschlag entstand. Der letztere wurde auf einem glatten Filter gesammelt, ausgewaschen und durch langsame Zugabe von 150 ccm einer 0,2%igen Sodalösung gelöst. Das abtropfende Filtrat muß nach 12stündigem Stehen nochmals filtriert werden. Die nun klar bleibende Lösung diente in der Weise zu meinen Versuchen, daß 50 ccm derselben mit 1 ccm einer 1%igen Witte-Peptonlösung versetzt und diese Lösung gleichmäßig auf fünf Reagensgläser verteilt wurde. Weitere 50 ccm der Sodalösung verteilte ich gleichfalls auf fünf Reagensgläser, aber ohne Zusatz der Witte-Peptonlösung.

In geeigneten Intervallen entnahm ich je ein Reagensglas dem Thermostaten, fügte ein bestimmtes Volum konzentrierter Natronlauge und sehr verdünnter Kupfersulfatlösung hinzu und machte denselben Versuch gleichzeitig mit einem der Reagensgläser, die die peptonfreie Flüssigkeit enthielten, unter Zusatz der entsprechenden Menge Witte-Pepton, d. h. für jedes Reagensglas 0,2 ccm der 1%igen Lösung. Der so ermöglichte unmittelbare Vergleich der Intensität der Biuretreaktion in den Versuchsflüssigkeiten und den Kontrollösungen, in denen die ganze Menge des Peptons unverändert zugegen war, ließ mit Sicherheit eine deutliche Erepsinwirkung feststellen.

5. Urease und Desamidase.

Die mit Harnstoff und Glykokoll ausgeführten Versuche ergaben die Gegenwart einer Urease im Milzpulver, während eine Desamidase fehlt. Die Versuche wurden 3 bis 7 Tage unter täglich erneuertem Zusatz von je 0,1 Volumprozent Toluol zur Erreichung vollständiger Sterilität durchgeführt. Nach der Beendigung der Einwirkung enteiweißte ich je 100 ccm der Filtrate mit 25 ccm kolloidaler Eisenoxydlösung und 4 ccm Magnesiumsulfatlösung (10%) und benutzte je 50 ccm der klaren Filtrate zur Analyse. Zur Ammoniakbestimmung wurden 50 ccm Wasser und 2 g Magnesia hinzugefügt und bei 15 mm

Quecksilberdruck aus einem Wasserbad von 43° bis zur Trockne direkt in $^n/_{10}$-Schwefelsäure destilliert. Die Versuche sind in Tabelle IX zusammengestellt.

Tabelle IX.

Nr.	Zusammensetzung der Mischung	Kubikzentimeter $^n/_{10}$-H_2SO_4, verbraucht zur Neutralisation des Ammoniaks nach				
		3 Tagen	4 Tagen	5 Tagen	6 Tagen	7 Tagen
1	Pulver . . . . . 3 g	0,7	0,5	0,6	0,7	0,9
	Aq. dest. . . . . 150 ccm	0,5	0,4	0,6	0,8	0,8
	Toluol . . . . . 1,5 „	—	—	—	—	—
2	Pulver . . . . . 3 g	3,8	3,5	3,4	3,7	4,0
	Harnstoff . . . 0,5 g	3,7	3,6	3,5	3,5	3,8
	Aq. dest. . . . . 150 ccm	—	—	—	—	—
	Toluol . . . . . 1,5 „	—	—	—	—	—
3	Pulver . . . . . 3 g	0,9	0,8	0,9	0,8	1,2
	Glykokoll . . . 0,5 g	0,7	0,9	1,0	1,0	0,8
	Aq. dest. . . . . 150 ccm	—	—	—	—	—
	Toluol . . . . . 1,5 „	—	—	—	—	—

Zusammenfassung.

Es ist festgestellt worden, daß das trockne Pulver der Schweinemilz Katalase, Oxydase, Stärke und Glykogen spaltende Diastase, Inulase, Invertase, Lipase, Urease und Enzyme vom Typus des Pepsins, Trypsins und Erepsins enthält.

Hingegen fehlen Lactase, Desamidase und glykolytische Enzyme.

Notiz über den Nachweis und die Bestimmung des Harnzuckers.

Von

A. C. Andersen.

(Aus dem physiologischen Laboratorium der Universität Kopenhagen.)

(Eingegangen am 19. Oktober 1911.)

Seitdem ich vor wenigen Jahren einige Kontrolluntersuchungen über die Verwendung der Mercurinitrats als Klärungs- und Entfärbungsmittel bei Harnzuckerbestimmungen veröffentlichte[1]), haben Bang und Bohmannsson[2]) die Angabe gemacht, daß Blutkohle mit ebenso gutem Resultat benutzt werden kann, wenn der Harn mit 5% HCl versetzt wird; diese Salzsäuremenge sollte die sonst durch Adsorption eintretenden Zuckerverluste völlig verhindern. Daß dies nicht richtig ist, hatte ich vor kurzem Gelegenheit zu beobachten, und weil die Sache von analytischer Bedeutung ist, gebe ich hier die diesbezüglichen Kontrolluntersuchungen.

Die Untersuchungen wurden teils mit wässerigen Glucoselösungen ausgeführt, teils aber auch mit solchen, wo die Glucose in normalem Harn gelöst war. Zur Verwendung kam Blutkohle von verschiedenen Fabriken:

Kohle A: Vor etwa fünf Jahren eingekauft.

Kohle B: Aus Kohle A durch Auskochen mit 5%iger Salzsäure und nachfolgendem, wiederholtem Auskochen mit Wasser hergestellt.

Kohle C: Von Flemming, Kalk bei Köln, geliefert.

Kohle D: Von Kahlbaum, Berlin.

Kohle E: Von Merck („Mercks gar. reine Reagenzien").

[1]) A. C. Andersen, diese Zeitschr. 15, 76, 1908.

[2]) J. Bang u. G. Bohmannsson, Zeitschr. f. physiol. Chem. 68, 449, 1909, siehe auch J. Bang, H. Lyttkens u. J. Sandgren, ibid. 65, 497, 1910.

Die Knochenkohle war von Kahlbaum, und zwar feinstes Produkt.

Sämtliche Kohle war lufttrocken.

1. Versuche mit wässerigen Glucoselösungen.

Reine Glucose („Kahlbaum") wurde direkt in 5%iger Salzsäure gelöst. Die Lösung wurde sowohl direkt wie auch nach Schütteln mit 8% Kohle in 10 Minuten und Filtrieren analysiert; für die stärkeren Lösungen wurden die Bestimmungen polarimetrisch, für die schwächeren titrimetrisch, und zwar nach der Bangschen Methode ausgeführt. Die Resultate sind in Tabelle I zusammengestellt.

Tabelle I.

Glucose, in 5%iger Salzsäure gelöst.

	% Glucose, durch Polarisation bestimmt			% Glucose, durch Titration nach Bang bestimmt	
Ohne Vorbehandlung	4,08	1,06	0,48	0,52	0,12
Mit Blutkohle A .	3,20	0,57	0,29	0,29	0,05
„ „ B .	3,20	0,60	—	—	—
„ „ D .	2,83	0,45	—	—	—
„ „ E .	2,92	0,44	—	—	—
„ Knochenkohle .	3,76	0,98	—	—	—

Es ergibt sich hieraus, daß 5%ige Salzsäure bei weitem nicht die Adsorption des Zuckers durch Blutkohle unterdrückt; bei Knochenkohle ist der Fehler viel geringer, aber doch noch vorhanden.

2. Versuche mit Glucose, die in Harn gelöst ist.

Die Entfärbung des Harns durch Bleiacetat oder Mercurinitrat geschah in der früher angegebenen Weise[1]). Die Entfärbung mit Kohle wurde in der Weise ausgeführt, daß 240 ccm Harn mit 25%iger Salzsäure bis auf 300 ccm verdünnt und dann in Portionen à 50 ccm mit je 4 g Kohle geschüttelt wurden. Die Resultate sind in Tabelle II zusammengestellt. Sämtliche Lösungen sind mit demselben normalen Harn hergestellt, dessen Drehungsvermögen zuerst untersucht war; wenn überhaupt eine Drehung beobachtet werden konnte, zeigte sich die Lösung immer linksdrehend. Die Zahlen in Kolonne III geben die Glucosemengen an, die den numerischen Werten der beobach-

[1]) A. C. Andersen, l. c.

taten Linksdrehungen entsprechen. Bei der Berechnung der in Kolonne I und II angegebenen Zuckermengen sind die unter entsprechenden Verhältnissen gefundenen Linksdrehungen des normalen Harns berücksichtigt.

In Kolonne VI ist das Reduktionsvermögen des normalen Harns, als Glucose berechnet, angegeben. Die in Kolonne IV und V angeführten Zuckermengen sind die Differenzen zwischen den wirklich gefundenen Totalreduktionen und den unter entsprechenden Verhältnissen gefundenen (in Kolonne VI aufgeführten) Reduktionen des normalen Harns.

Tabelle II.
Glucose, in Harn gelöst.

	% Glucose, durch Polarisation bestimmt			% Glucose, durch Titration nach Bang bestimmt		
	I	II	III	IV	V	VI
Ohne Vorbehandlung	—	—	—	0,45	0,15	0,30
Mit Bleiacetat	2,01	0,74	(0,11)	0,42	0,13	0,27
„ Mercurinitrat	—	—	—	0,40	0,12	0,12
„ Blutkohle A	1,66	0,63	0	0,32	0,09	0,12
„ „ B	1,74	0,67	0	0,31	0,11	0,12
„ „ C	—	—	—	0,26	0,09	0,10
„ „ D	1,54	0,58	0	0,26	0,08	0,09
„ „ E	1,54	0,58	0	0,27	0,07	0,10
„ Knochenkohle	2,04	0,74	(0,04)	0,35	0,12	0,20

Es erhellt hieraus, daß 5% HCl auch im Harne nicht genügt, um die Zuckeradsorption durch Blutkohle zu verhindern. Knochenkohle nimmt hier keinen Zucker auf, vermindert aber — wie auch Bang und Bohmannsson gefunden haben — die normale Harnreduktion in erheblich geringerem Grade als Blutkohle oder Mercurinitrat.

Noch kann erwähnt werden, daß Rona und Michaelis[1]) angegeben haben, daß das Vorhandensein von 10% Essigsäure die Adsorption des Zuckers durch Blutkohle verhindert. Auch die Richtigkeit dieser Angabe wurde kontrolliert. Die diesbezüglichen Versuche wurden teils mit Lösungen von Glucose in 10%iger Essigsäure, teils auch mit Lösungen von Glucose in Harn ausgeführt, wobei das Verfahren ganz wie oben war, nur daß 50%ige Essigsäure statt 25%iger Salzsäure verwendet wurde. Die

[1]) P. Rona und L. Michaelis, diese Zeitschr. 16, 491, 1909.

Resultate sind in Tabelle III und IV zusammengestellt; die Anordnung ist dieselbe wie in Tabelle I und II.

Tabelle III.

Glucose, in 10%iger Essigsäure gelöst.

	% Glucose, durch Polarisation bestimmt		% Glucose, durch Titr. nach Bang bestimmt
Ohne Vorbehandlung . . .	5,23	1,31	0,43
Mit Blutkohle A	4,97	—	0,40
„ „ B	4,97	—	0,40
„ „ C	4,90	—	0,40
„ „ D	4,94	—	0,40
„ „ E	4,91	1,23	0,40
„ Knochenkohle	5,07	1,29	0,41

Tabelle IV.

Glucose, in Harn gelöst.

	% Glucose, durch Polarisation bestimmt		% Glucose, durch Titration nach Bang bestimmt	
	I	III	IV	VI
Ohne Vorbehandlung	—	—	0,45	0,23
Mit Bleiacetat	4,17	(0,10)	0,46	0,18
„ Mercurinitrat	4,10	0	0,41	0,11
„ Blutkohle A	4,05	0	0,41	0,10
„ „ B	4,06	0	0,40	0,10
„ „ C	4,04	0	0,41	0,10
„ „ D	4,05	0	0,41	0,09
„ „ E	4,02	0	0,41	0,09
„ Knochenkohle	4,06	(0,04)	0,42	0,13

Während sich somit bei den Bestimmungen wie auch bei dem qualitativen Nachweis des Harnzuckers das von Bang und Bohmannsson in Vorschlag gebrachte Verfahren zur Klärung des Harns nicht ohne Fehler benutzen läßt, kann das folgende Verfahren nebst dem früher erwähnten Quecksilberverfahren in vielen Fällen gute Dienste leisten:

40 ccm Harn werden mit 50%iger Essigsäure bis auf 50 ccm und dann mit 4 g gepulverte Blutkohle versetzt und innerhalb 5 bis 10 Minuten mehrmals geschüttelt. Die Mischung wird dann auf ein trockenes Filter gegossen, wobei die Flüssigkeit wasserhell und farblos abläuft. Das Filtrat kann ohne Neutralisation polarisiert oder nach Bang titriert werden.

Die Verwertung der in den Futtermitteln enthaltenen Phosphorverbindungen durch Wiederkäuer.

Vorläufige Mitteilung[1]).

Von

Gustav Fingerling.

(Aus der Kgl. Württ. landwirtschaftl. Versuchsstation Hohenheim.)

(Eingegangen am 20. Oktober 1911.)

Trotz der großen Bedeutung, die die Frage nach der Verwertung der in den Futtermitteln enthaltenen Phosphorverbindungen durch landwirtschaftliche Nutztiere sowohl in ernährungsphysiologischer wie wirtschaftlicher Beziehung besitzt, sind unsere Kenntnisse in dieser Richtung bekanntlich noch außerordentlich lückenhaft. Wir wissen heute nicht einmal, in welcher Form die verschiedenen Phosphorverbindungen in den einzelnen Futtermitteln enthalten sind, in welchem Umfang sie vom Wiederkäuer verdaut und verwertet werden können, und waren bislang gezwungen, unsere Schätzungen auf Grund der J. Lehmannschen und Weiskeschen Versuche vorzunehmen, deren Beweiskraft aber aus verschiedenen Gründen keine zwingende ist. Denn abgesehen davon, daß beide Forscher die Lösung einer anderen Frage anstrebten, können die aus diesen Versuchen — die auch in technischer Beziehung vieles zu wünschen übrig lassen — hergeleiteten Schlüsse hinsichtlich der Verwertung der organischen Phosphorverbindungen schon aus dem Grunde nicht gezogen werden, weil sich die Rationen aus

---

[1]) Nach einem in der Abteilung für Agrikulturchemie und landw. Versuchswesen der 83. Versammlung deutscher Naturforscher und Ärzte in Karlsruhe gehaltenen Vortrage.

einem Gemisch der verschiedensten Futterstoffe — Rauhfutter, Wurzelgewächse und Kraftfutter — zusammensetzten, so daß eine schlechte Verwertung der Phosphorverbindungen des einen Futtermittels durch eine bessere des anderen verschleiert sein kann und vice versa.

Wollten wir aber den Lehmannschen und Weiskeschen Versuchen eine Beweiskraft zuerkennen, so würden wir zu dem Ergebnis kommen, daß die in den Futtermitteln enthaltenen organischen Phosphorverbindungen vom Wiederkäuer günstigstenfalls nur zu 65% verwertet werden können, während doch eine bessere Ausnützung der anorganischen Phosphorverbindungen sichergestellt ist, ein Resultat, das jeden Biologen seltsam anmuten wird, jedenfalls die Wiederkäuer in einen merkwürdigen Gegensatz zu den Karnivoren bringen würde, von denen festgestellt ist, daß sie auch organische Phosphorverbindungen zu hohen Prozenten anzusetzen vermögen.

Diese Widersprüche und Unsicherheiten der Lehmannschen und Weiskeschen Versuche ließen es mir wünschenswert erscheinen, diese bislang noch ungeklärten Verhältnisse durch systematisch angelegte Fütterungsversuche näher zu studieren, und ich gebe im Nachfolgenden eine vorläufige Mitteilung der von mir bis jetzt erhaltenen Ergebnisse; denn es liegt in der Natur dieser Versuche und den dabei zu überwindenden Schwierigkeiten, daß definitive Resultate erst durch längere Zeit durchgeführte Untersuchungen zu erhalten sind.

Ich hatte Gelegenheit, bei Versuchen, die andere Ziele verfolgten, festzustellen, daß tatsächlich die Phosphorverbindungen des Heues oder Grummets nur zu 50 bis 60% vom Wiederkäuer verwertet werden können. Ein Farrenkalb, das durch 3 kg Grummet 25,71 g Phosphorsäure erhielt, nützte diese Phosphorsäuremenge nur zu 45,6% aus, und diese Ausnutzung war jedenfalls die höchst erreichbare, denn als in einem folgenden Fütterungsabschnitt noch 7,932 g Phosphorsäure in Form von Dinatriumphosphat zugelegt wurden, kamen von der Phosphorsäure noch 3,850 g zur Verwertung. Ähnliche Resultate erhielt ich später bei Versuchen mit milchgebenden Ziegen; die in einem normalen Wiesenheu enthaltenden Phosphorverbindungen wurden von dem einen Versuchstier nur zu 50,9% verwertet, die eines anderen Heues von einem anderen Tiere

zu 56,1%; bei einem guten Grummet kamen die Phosphorverbindungen zu 57,9% zur Ausnützung.

Ich muß gestehen, daß diese Resultate mir überraschend kamen, weil ich der Ansicht war, daß die bei den Lehmannschen und Weiskeschen Versuchen erhaltene schlechte Verwertung der Phosphorverbindungen durch die mangelhafte Versuchsanlage herbeigeführt worden war.

Wie ist nun dieses Resultat zu erklären? Kommt die schlechtere Verwertung der im Heu enthaltenen Phosphorverbindungen daher, daß, wie Neumeister[1]) meint, „in den Pflanzen die Phosphorsäure fast lediglich als Calciumphosphat vorkommt, das nur zum allergeringsten Teil im Magen zur Resorption gelangt, während die Hauptmenge desselben im Darm ungelöst bleibt und daher mit dem Kot ausgeschieden wird"; oder rührt die schlechtere Verwertung daher, daß die einzelnen organischen Bindungsformen des Phosphors — Lecithin, Phytin, Nucleoalbumin, Nuclein, Nucleinsäure usw. — untereinander verschieden sind? Die erstere Annahme, daß in den Futterstoffen der Phosphor hauptsächlich in Form von Calciumphosphat enthalten sei, ist heute nicht mehr aufrechtzuhalten, und die weitere Voraussetzung, daß Calciumphosphat von den Wiederkäuern nicht verwertet werden könne, ist durch die Köhlerschen Versuche widerlegt. Es bliebe mithin die Frage zu untersuchen, ob nicht etwa die Verwertbarkeit der einzelnen Bindungsformen des Phosphors in den Futtermitteln (sei es Lecithin, Phytin, Nucleoalbumin, Nuclein oder Nucleinsäure) derartige Unterschiede aufweise, daß durch das Überwiegen des einen oder anderen Phosphorträgers in einem Futtermittel die mehr oder weniger hohe Verwertung zu erklären sei.

Der Versuchsplan war durch diesen Gedankengang gegeben: Die Versuche wurden in der Weise eingerichtet, daß die einzelnen Phosphorverbindungen zwecks Prüfung auf ihre Verwertbarkeit durch den tierischen Organismus in isolierter Form einem phosphorsäurearmen Futter zugelegt wurden, mit der Maßgabe, daß die auf diese Weise zugeführte Phosphorsäuremenge stets geringer war, als das Tier benötigte. Daß für solche Versuche in erster Linie wachsende und milchgebende Tiere in Betracht

[1]) Lehrbuch der physiol. Chem., 2. Aufl., S. 732.

kommen, die auch ein wirkliches, stets nachweisbares Phosphorsäurebedürfnis haben, liegt auf der Hand. Ich verfütterte daher an wachsende Lämmer und milchgebende Ziegen nacheinander Phytin, Lecithin, Nuclein, nucleinsaures Natrium und zum Vergleich anorganische Phosphorverbindungen (Dinatriumphosphat) und konnte feststellen, daß größere Unterschiede in der Verwertung der einzelnen Phosphorverbindungen nicht auftraten, jedenfalls keine so großen Verschiedenheiten, daß sie zur Erklärung der schlechten Verwertung der Phosphorverbindungen, wie wir sie beim Heu und Grummet gefunden hatten, hätten dienen können. Die Ursache hierfür mußte also in anderer Richtung gesucht werden.

Um der Lösung des Rätsels etwas näher zu kommen, stellte ich durch Fütterungsversuche die Verwertung der in den verschiedenen Kraftfuttermitteln und Körnern enthaltenen Phosphorverbindungen fest. Ich wählte hierzu Hafer, Sesamkuchen und Leinkuchen. Die Versuche ergaben, daß die Phosphorverbindungen des Hafers zu 90,5%, die der Sesamkuchen zu 91,8 resp. 89,8% und diejenigen der Leinkuchen zu 87,7% vom tierischen Organismus verwertet werden können, mithin ein typischer Unterschied zwischen den Rauhfuttermitteln und den Kraftfuttermitteln besteht.

Nach diesen Ergebnissen lag die Vermutung nahe, daß die Verwertung der Phosphorverbindungen nicht von der Form, in der sie in den einzelnen Futterstoffen enthalten sind, abhängig ist, sondern von dem Gehalt der Futtermittel an einhüllenden oder inkrustierenden Bestandteilen, überhaupt von den mehr oder weniger großen Hindernissen, die sich der Auflösung der Phosphorverbindungen durch die Verdauungssäfte entgegenstellen.

War diese Annahme richtig, so mußten Unterschiede hinsichtlich der Verwertung der Phosphorverbindungen des Grases und eines daraus gewonnenen Heues auftreten. Ich verabfolgte daher einer milchgebenden Ziege einmal junges Wiesengras und benutzte einen Teil desselben Materials, um daraus Heu zu bereiten, das ich in der darauffolgenden Periode verfütterte. Während nun die Phosphorverbindungen des Heues wieder nur

zu 53,4% zur Verwertung kamen, stellte ich beim Gras eine Verwertung von 91,0% fest. Die Zellen des Grases waren noch nicht durch den Trocknungsprozeß verhärtet, so daß die Verdauungssäfte bei dem gequollenen Zustande, in dem sich die Zellen des Grases noch befanden und bei der leichten Diffundierbarkeit der Zellwände leicht eindringen, die Phosphorverbindungen zur Auflösung bringen und in resorbierbare Form überführen konnten. Bei dem aus demselben Gras bereiteten Heu waren durch die Trocknung dagegen die Zellwände verhärtet, der Zellinhalt durch die einhüllenden und inkrustierenden Stoffe den Verdauungssäften schwerer zugänglich, und infolgedessen konnten auch die Phosphorverbindungen nicht in demselben Umfange zur Auflösung und Verdauung gelangen, wie diejenigen des Grases, weil sie durch die geschilderten Umstände zum Teil der auflösenden Wirkung der Verdauungssäfte entzogen waren.

Ähnlich liegen die Verhältnisse bei den Kraftfuttermitteln; da sie bei ihrem niedrigen Rohfasergehalt auch wenig einhüllende oder inkrustierende Stoffe enthalten, kann der Zellinhalt leicht zur Verdauung gelangen, wie wir dies ja schon längst wissen; infolgedessen werden auch die Phosphorverbindungen, die in den Kraftfuttermitteln enthalten sind, ohne Schwierigkeit aufgelöst und zu hohen Prozenten verwertet, wie es die oben vorgeführten Zahlen gezeigt haben.

Daß die Verwertung der Phosphorverbindungen des Grases und Heues durch wachsende Tiere und Milchtiere eine verschiedene ist, wurde schon vielfach beobachtet. Namentlich in Moorgegenden hat man die Erfahrung gemacht, daß bei jungen, wachsenden Rindern, die mit Moorwiesengras gefüttert wurden, keine Knochenbrüchigkeit, Lecksucht usw. auftraten, während diese Krankheitserscheinungen sich zeigten, sobald die Tiere mit dem Heu ernährt wurden, das von dem Gras dieser Moorwiesen stammte. v. Soxhlet wies zur Erklärung dieser Erscheinung darauf hin, daß durch das Trocknen die Lecithinverbindungen abgebaut werden und infolgedessen ein für die Entwicklung des jungen Tieres wichtiger Stoff der Zersetzung anheimfalle. Meinen Versuchen nach ist es aber nicht ausgeschlossen, daß außerdem noch der Umstand in Betracht kommt, daß die Phosphorverbindungen des Grases in größerem

Umfange zur Verdauung und Verwertung gelangen, als die des Heues, und daß mithin den Tieren, die mit Gras gefüttert werden, größere Phosphorsäuremengen zur Deckung ihres Bedarfes zur Verfügung stehen als bei der Heufütterung, ein Punkt, der angesichts des geringen Gehaltes der Moorwiesengräser an Phosphorverbindungen von Bedeutung ist.

Ich gedenke nun in der nächsten Zeit weitere Futtermittel darauf hin zu prüfen, in welchem Umfange die darin enthaltenen Phosphorverbindungen durch den tierischen Organismus verwertet werden können, um auf diese Weise allmählich sichere Grundlagen zu schaffen, die bei Aufstellung von Futterrationen eine präzise Antwort auf die Frage erlauben, ob die in den Rationen enthaltenen Phosphorsäuremengen zur Deckung des Bedarfs der Tiere ausreichen.

Über die Bestimmung von Phenol und Parakresol in ihren Gemischen.

Von

Hugo Ditz und Friedrich Bardach.

(Aus dem Laboratorium für chemische Technologie anorganischer Stoffe der deutschen technischen Hochschule in Prag.)

(*Eingegangen am 19. Oktober 1911.*)

Die Ausarbeitung einer Methode zur Untersuchung von Lysol, Creolin und ähnlichen Phenolprodukten, die der eine von uns (D.) gemeinschaftlich mit R. Clauser vor mehr als 13 Jahren veröffentlichte[1]), veranlaßte ihn in der Folge, zur Aufklärung der in der Literatur damals vorhandenen Widersprüche über das Bromaufnahmevermögen der isomeren Kresole eine Untersuchung in dieser Richtung durchzuführen. Gleichzeitig sollte hierbei festgestellt werden, ob sich auf Grundlage des verschiedenen Bromaufnahmevermögens der Kresole und des Phenols (bei bekanntem Gewicht des Phenolgemisches und mit Verwendung der unter bestimmten Verhältnissen ermittelten Bromaufnahme) die einzelnen Bestandteile in Phenolgemischen ermitteln lassen. Diese mit F. Cedivoda vor ungefähr 12 Jahren veröffentlichte Arbeit[2]) führte zu dem Ergebnis, daß bei Einhaltung bestimmter Arbeitsbedingungen (Anwendung eines bestimmten, nicht zu großen Bromüberschusses, Einwirkungsdauer des Broms von 1 Minute) o- und

[1]) H. Ditz und R. Clauser, Über eine Neuerung in der Analyse des Lysols, Creolins und ähnlicher Produkte. Chem.-Ztg. 22, 732, 1898.

[2]) H. Ditz und F. Cedivoda, Über das Verhalten des Phenols und der isomeren Kresole gegen Brom mit Rücksicht auf deren quantitative Bestimmung in ihren Gemischen. Zeitschr. f. angew. Chem. 12, 873, 897, 1899. S. auch W. Vaubel, ebenda 12, 1031, 1899, und H. Ditz, Über die Bromaufnahme der Phenole, ebenda 12, 1155, 1899.

p-Kresol je 2 Atome, m-Kresol und Phenol je 3 Atome Brom per Molekül aufnehmen, während bei Anwendung eines großen Bromüberschusses und Einhaltung einer anderen bestimmten Arbeitsweise o- und p-Kresol je 3 Atome, Phenol und m-Kresol je 4 Atome Brom per Molekül aufnehmen. Auf Grund des zuerst angegebenen Bromaufnahmevermögens war es ferner nach diesen Untersuchungen prinzipiell möglich, in Phenolgemischen o- und p-Kresol neben m-Kresol, sowie o- und p-Kresol neben Phenol mit für technische Zwecke genügender Genauigkeit quantitativ zu ermitteln. Als dann im darauffolgenden Jahre (1900) F. Raschig[1]) seine bekannte Methode zur Bestimmung von m-Kresol in Kresolgemischen veröffentlichte, machte der eine von uns[2]) auf die mit Cedivoda auf Grundlage der angeführten Untersuchungen prinzipiell angegebenen Methode zur Bestimmung des m-Kresols in Kresolgemischen aufmerksam, die allerdings nur bei Abwesenheit von Phenol (Karbolsäure) und höheren Phenolen (Xylenolen) anwendbar ist.

Im folgenden Jahre (1901) teilten F. Russig und G. Fortmann[3]) ein weiteres Verfahren zur Bestimmung von m-Kresol in Kresolgemischen mit und führten gleichzeitig Versuche durch, die eine Nachprüfung der von D. und C. vorgenommenen Untersuchungen bezwecken sollten, wobei sie, bei angeblicher Einhaltung der vorgeschriebenen Versuchsbedingungen, zu abweichenden Resultaten gelangten. Wie aber der eine von uns (D), im Anschluß an die Veröffentlichung von Russig und Fortmann, bei Besprechung sämtlicher von R. und F. angeführten Versuchsergebnisse (im Vergleich zu den von D. und C. gemachten Angaben) zahlenmäßig feststellen konnte[4]), war die Abweichung ihrer Versuchsergebnisse darauf zurückzuführen, daß die von D. und C. angegebenen Versuchsbedingungen nicht eingehalten wurden, und daß besonders ein wesentliches Moment, bestehend in der Anwendung eines bestimmten, nicht zu großen

---

[1]) F. Raschig, Verfahren, Metakresol in Kresolgemischen zu bestimmen. Zeitschr. f. angew. Chem. 13, 759, 1900.

[2]) H. Ditz, Zur Bestimmung des Metakresols in Kresolgemischen. Ebenda 13, 1050, 1900.

[3]) F. Russig und G. Fortmann, Zur Kresolbestimmung. Ebenda 14, 157, 1901.

[4]) H. Ditz, Zur Kresolbestimmung. Ebenda 14, 160, 1901.

Bromüberschusses, entgegen den klaren, zahlenmäßigen Angaben von D. und C. ganz außer acht gelassen wurde. Auf Grund dieser Feststellungen konnten die von R. und F. aus ihren, in unrichtiger Weise durchgeführten Versuchen gezogenen Schlußfolgerungen in ihrer Gänze zurückgewiesen und die von D. und C. veröffentlichten Versuchsergebnisse und die daraus gezogenen Schlußfolgerungen vollinhaltlich aufrecht erhalten werden. Seither ist durch fast 10 Jahre über diesen Gegenstand nichts Neues veröffentlicht worden, wenn auch die Untersuchung von Phenolen und Phenolprodukten in zahlreichen Arbeiten behandelt worden ist.

Vor bald einem Jahre veröffentlichten M. Siegfried und R. Zimmermann[1]) eine Abhandlung, betitelt „Methode zur getrennten Bestimmung von Phenol und Parakresol im Harn", worin sie, nach Durchführung einiger weniger Versuche, die mit Cedivoda veröffentlichten Versuchsergebnisse des einen von uns, sowie die darauf basierende Methode (für die Bestimmung von Phenol neben p-Kresol angewendet) einer abfälligen Kritik unterziehen, um in Anschluß daran, mit Anlehnung an das von diesen für die Untersuchung von Phenolgemischen zum erstenmal angewendete Prinzip, ein Verfahren zur Bestimmung von p-Kresol neben Phenol (das speziell auch für die Ermittlung der beiden Phenole im Harn dienen soll) anzugeben.

Obwohl der eine von uns sich seit mehr als 10 Jahren mit dem vorliegenden Gegenstand nicht mehr befaßt hatte, veranlaßte ihn die, wie aus folgendem zu ersehen sein wird, durchaus ungerechtfertigte Kritik von seiten Siegfrieds und Zimmermanns, die von diesen hinsichtlich der Versuchsergebnisse von D. und C. gemachten Äußerungen auf ihre Richtigkeit zu prüfen. Gleich bei Durchsicht der Abhandlung von Siegfried und Zimmermann konnte festgestellt werden, auf welche Ursachen die Differenzen ihrer Versuchsergebnisse von den unseren zurückzuführen sein dürften. Dessenungeachtet haben wir uns aber auch der Mühe unterzogen, die einschlägigen, für die Anwendung der Methode von D. und C. (für den

[1]) M. Siegfried u. R. Zimmermann, Methode zur getrennten Bestimmung von Phenol und Parakresol im Harn. Diese Zeitschr. 29, 368, 1910.

speziellen Zweck der Bestimmung von Phenol neben p-Kresol) grundlegenden Versuche nochmals durchzuführen, sowie im Anschlusse daran die Methode für Gemische von Phenol und p-Kresol, die als technisch bedeutungslos[1]) seinerzeit nicht speziell geprüft wurde, einerseits hinsichtlich ihrer Brauchbarkeit zu untersuchen und dieselbe andererseits mit der Methode von S. und Z., an der Hand ihrer Beleganalysen, in Vergleich zu ziehen.

Es ist vielleicht nicht überflüssig, wenn wir gleich einleitend hervorheben — um einen diesbezüglichen Einwand von vornherein auszuschließen — daß in der uns als Sonderabdruck vorliegenden Abhandlung von Siegfried und Zimmermann[2]) es sich um Methoden zur Bestimmung von Phenol neben p-Kresol im allgemeinen handelt und daß nur im Titel, sowie in der Einleitung der Abhandlung die Einschränkung „im Harn" angegeben ist. Die Abhandlung schließt auch mit dem Satze: „Über Bestimmungen des Phenols und Kresols im menschlichen Harn, von denen wir bereits eine Anzahl ausgeführt haben, soll in Kürze berichtet werden"[3]).

Betreffend die Methode von D. und C. bemerken Siegfried und Zimmermann (Seite 370) folgendes: „Schon Russig und Vortmann geben an, daß die Methode von Ditz und Cedivoda keine genauen Werte liefert, wir bestätigen dies weiter unten." Ferner schreiben sie (S. 372): „Wir haben zunächst die Bedingungen, die Ditz und Cedivoda angegeben haben, nachgeprüft und sind zu dem gleichen Resultate wie F. Russig und G. Vortmann gelangt, daß sie nicht brauchbar sind."

[1]) Eine Untersuchung von G. Lunge und Zschokke (Chem. Ind. 8, 6, 1885) über den Schmelzpunkt der Gemische von reinem Phenol und reinem p-Kresol konnte nach ihrer eigenen Angabe keine direkte analytische Anwendung finden.

[2]) Da mir die Biochemische Zeitschrift hier nicht zugänglich ist und ich zunächst nur durch die Referate (Chem. Ztg. 35, 1911, Repert. S. 53; Chem. Centralbl. 1911 I, 99) Kenntnis von der Arbeit erhielt, wandte ich mich brieflich an Hern Professor Siegfried, der mir in freundlicher Weise einen Sonderabdruck der Abhandlung zur Verfügung stellte. H. D.

[3]) Nach Fertigstellung des Manuskriptes erschien im Chem. Centralbl. das Referat einer zweiten Abhandlung von Siegfried und Zimmermann (diese Zeitschr. 34, 462; Chem. Centralbl. 1911 II, 1067), welche die Anwendung ihrer Methode für die getrennte Bestimmung von Phenol und p-Kresol im Harn zum Gegenstande hat. Vgl. auch S. 311.

Zunächst müssen wir hierzu in formeller Beziehung bemerken, daß, wie schon oben erwähnt, auf die von F. Russig und G. Fortmann[1]) veröffentlichte Kritik[2]) der mit F. Cedivoda angegebenen Methode, der eine von uns in demselben Hefte der Zeitschrift für angewandte Chemie in einer unmittelbar darauffolgenden Abhandlung[3]) geantwortet und den Nachweis erbracht hat, daß die betreffenden Versuchsresultate bzw. die daraus gezogenen Schlußfolgerungen von R. und F. aus den schon erwähnten Gründen ausnahmslos unrichtig waren. Obwohl Russig und Fortmann alle Veranlassung gehabt hätten, auf diese Zurückweisung ihrer gänzlich haltlosen Kritik zu erwidern, sind bis jetzt mehr als 10 Jahre verflossen, ohne daß die beiden Herren auch nur den Versuch einer Widerlegung der von D. erhobenen Einwände unternommen hätten. Daraus läßt sich wohl schließen, daß R. und F. sich von der Unrichtigkeit ihrer Kritik überzeugt hatten.

Diese gegen Russig und Fortmann gerichtete Abhandlung des einen von uns, haben nun Siegfried und Zimmermann merkwürdigerweise in ihrer Arbeit überhaupt nicht erwähnt. Will man annehmen, daß diese Unterlassung nicht absichtlich geschehen ist, sondern daß sie diese Entgegnung übersehen hätten, so müßte man daraus den Schluß ziehen, daß sie auch die Arbeit von Russig und Fortmann im Original nicht gelesen haben dürften, denn sonst hätten sie die unmittelbar folgende Entgegnung des einen von uns unmöglich übersehen können.

Für diese Schlußfolgerung würde vielleicht der im Folgenden dargelegte Umstand sprechen: S. und Z. geben in ihrer Abhandlung (S. 372) Versuche an, die sie zur „Prüfung der Vorschrift von Ditz und Cedivoda“ durchgeführt haben und gliedern dieselbe in: I. Versuch mit Parakresol, II. Versuche mit Phenol, III. Versuche mit Mischungen von Phenol und Para-

---

[1]) S. und Z. schreiben beide Male (siehe oben) unrichtig G. Vortmann statt G. Fortmann. Ersterer war aber nicht der Mitarbeiter von F. Russig, sondern der von J. Messinger bei Ausarbeitung ihrer (von S. u. Z. auch zitierten) Phenolbestimmungsmethode: J. Messinger und G. Vortmann (Ber. 23, 2753, 1890).

[2]) a. a. O.

[3]) a. a. O.

kresol. Ad I. geben sie einen mit p-Kresol durchgeführten Versuch an, dessen Ergebnis sie zu der Schlußfolgerung führt: „Für Parakresol allein wurde also ein genauer Wert erhalten." Mit dieser aus ihrem Versuch gezogenen Schlußfolgerung bestätigen also anscheinend Siegfried und Zimmermann die von Ditz und Cedivoda mit p-Kresol erhaltenen Versuchsresultate[1]).

Frägt man sich nun, was nach dieser Feststellung S. und Z. veranlaßt haben konnte, zu behaupten, sie seien „zu dem gleichen Resultate wie Russig und Fortmann gelangt", so würde nur der eine Umstand in Betracht kommen, daß S. und Z. bei ihren ad II. und III. angegebenen Versuchen mit Phenol und mit Gemischen von Phenol und p-Kresol, zu im Vergleich zu den Versuchsergebnissen von D. und C., abweichenden Resultaten gelangt sind. Hier ist aber Siegfried und Zimmermann ein Versehen unterlaufen. Die von Russig und Fortmann veröffentlichte Abhandlung, betitelt „Zur Kresolbestimmung", hatte nämlich die Bestimmung des Metakresols in Kresolgemischen zum Gegenstande. Demgemäß hatten Russig und Fortmann selbstverständlich ausschließlich nur Versuche mit den drei Kresolen durchgeführt und in ihrer ganzen Abhandlung auch nicht einen Versuch mit Phenol oder mit Gemischen von Phenol mit p-Kresol angegeben. Die Versuche von Russig und Fortmann hatten dementsprechend mit den ad II. und III. von S. und Z. angegebenen Versuchen nicht das Mindeste zu tun; schon aus diesem Grunde könnte daher von einer Bestätigung der Versuchsresultate oder Schlußfolgerungen von R. und F. von seiten Siegfrieds und Zimmermanns nicht die Rede sein.

Nach diesen einleitenden Richtigstellungen, die gleichsam nur illustrieren sollen, wie wenig genau Siegfried und Zimmermann die für ihre Arbeit in Betracht kommenden Abhandlungen gelesen haben (wenn sie dieselben im Original

[1]) Wir möchten hier vorgreifend erwähnen, daß das anscheinend richtige Resultat, das S. und Z. für p-Kresol angeben, ein Zufallswert ist. Tatsächlich haben sie, wie weiter unten näher ausgeführt werden wird, unter Versuchsbedingungen gearbeitet, unter denen dieses Resultat normalerweise nicht erhalten werden kann, was durch unsere später angeführten (vgl. Fußnote 1 Seite 304 u. 1 Seite 305) Versuche auch experimentell bestätigt erscheint.

überhaupt gelesen haben sollten), gehen wir auf die von ihnen angeführten Versuche mit Phenol und Gemischen von Phenol mit p-Kresol über, deren Resultate von den mit C. seinerzeit erhaltenen erheblich abweichen.

S. und Z. haben mit Phenol zwei Versuche durchgeführt; sie geben die Mengen des angewandten und gefundenen Phenols an. Nach ihren Zahlenangaben würde sich ergeben, daß sie bei den 2 Versuchen um 4,2 bzw. 4,5%, das wäre im Mittel um 4,35%, zu wenig Phenol gefunden hätten. Berechnet man aus ihren Zahlen die Menge des aufgenommenen Broms, so ergibt sich als Mittelwert per Molekül Phenol eine Aufnahme von 2,87 Atomen Brom. Vergleicht man diesen Wert mit den seinerzeit von D. und C. erhaltenen Resultaten für die Bromaufnahme des Phenols, so ergibt sich: Nach dem angegebenen Versuch 4 (S. 876 der zitierten Abhandlung) wurden bei der bestimmten eingehaltenen Arbeitsweise 2,978 Atome Brom für 1 Molekül Phenol aufgenommen. Anschließend an diesen Versuch wurde (wie ausdrücklich in der Abhandlung bemerkt ist), um zu sehen, ob bei längerer Einwirkungsdauer des Broms ein anderes Resultat erhalten wird, und um andererseits das frühere Resultat zu kontrollieren, bei Verwendung der gleichen Phenol- und Bromat-Bromid-Menge der in der Abhandlung folgende Versuch 5 nach der ursprünglichen Koppeschaarschen Vorschrift[1]) ausgeführt. Dieser Versuch ergab, in befriedigender Übereinstimmung mit dem vorhergehenden, für 1 Molekül Phenol eine Aufnahme von 2,974 Atomen Brom. Ferner ist (S. 898 der Abhandlung) nochmals im Versuch 20 (konform der Arbeitsweise bei Versuch 4) mit einer zweiten Phenollösung angegeben, wobei in Übereinstimmung mit dem früheren Versuch für 1 Molekül Phenol 2,98 Atome Brom aufgenommen wurden. Bei zwei mit verschiedenen Phenollösungen durchgeführten Versuchen wurden also nach der Arbeitsweise von D. und C. für 1 Molekül Phenol eine Aufnahme von 2,978 bzw. 2,98 Atomen Brom, also in großer Annäherung an den theoretischen Wert von 3 Atomen Brom, festgestellt. Siegfried und Zimmermann haben bei zwei Versuchen (mit nur einer Lösung), bei angeblicher Einhaltung der Versuchsbedingungen

[1]) W. F. Koppeschaar, Zeitschr. f. anal. Chem. 15, 233, 1876.

von D. und C. nur eine Aufnahme von 2,87 Atomen Brom (berechnet aus ihren Zahlenangaben) erhalten, ohne sich zwecks Kontrolle des Gehalts ihrer Phenollösung zu überzeugen, ob vergleichsweise nach der Arbeitsweise von Koppeschaar eine Aufnahme von 3 Atomen Brom per Molekül Phenol stattfindet.

Nach dieser Gegenüberstellung wäre man vielleicht berechtigt, die Versuchsergebnisse von S. und Z. ohne weiteres als zumindest sehr unwahrscheinlich hinzustellen, ohne sich erst der Mühe unterziehen zu müssen, die möglichen Ursachen ihrer abweichenden Resultate zu diskutieren. Trotz der spärlichen Angaben hinsichtlich der Versuchsbedingungen (S. und Z. geben weder an, wieviel Kubikzentimeter Thiosulfat sie zum Zurücktitrieren verbrauchten, noch welche Menge an Bromat-Bromid-Lösung sie anwendeten), wollen wir doch versuchen, so weit möglich, uns über diese Ursachen Klarheit zu verschaffen. Wenn wir das Nächstliegende annehmen wollen, daß S. und Z. hinsichtlich der Versuchsbedingungen die ad I. angegebenen Mengen- und Zeitverhältnisse eingehalten hätten, so müßten wir zu dem Resultate kommen, daß sie die von D. und C. angegebenen Arbeitsbedingungen durchaus nicht befolgt haben. Denn bei dem Versuch mit p-Kresol, bei dem sie zufälligerweise die Versuchsresultate von D. und C. bestätigen konnten, haben Siegfried und Zimmermann mit einem Bromüberschuß gearbeitet, der mehr als 4,5mal so groß, als die Menge des verbrauchten Broms war[1]). Während D. und C. bei sämtlichen Versuchen einen Bromüberschuß von rund 20 bis 35% des verbrauchten Broms anwendeten, haben also S. und Z. einen Überschuß von über 450% der Menge des verbrauchten Broms verwendet, denselben also etwa 13mal höher gehalten. Falls nun S. und Z. bei ihren zwei Versuchen mit Phenol mit einem ähn-

[1]) Nebenbei bemerkt, verwechseln S. und Z. in ihrer Arbeit wiederholt die Begriffe „gebundenes" und „verbrauchtes" Brom, also die Menge des vom Phenol aufgenommenen Broms (gebundenes) und die Gesamtmenge des verbrauchten Broms, die wegen der Bildung von HBr doppelt so groß ist, als die des gebundenen Broms. So soll es in ihrer Abhandlung (S. 372) ad I. statt „gebundenes Brom 0,0596" verbrauchtes Brom, ferner S. 373, erste Zeile, statt „gebundenes" verbrauchtes Brom heißen, dagegen Zeile 3 statt „b die verbrauchte Brommenge" b die gebundene Brommenge heißen.

lich großen Bromüberschuß gearbeitet hätten wie bei dem einen Versuch mit p-Kresol, so wäre es um so befremdlicher, wenn sie dabei nur eine Bromaufnahme von im Mittel 2,87 Atomen Brom für ein Molekül Phenol feststellen. Wie aus unseren, weiter unten angeführten Versuchen hervorgeht, wäre eher anzunehmen, daß sie bei den zwei Versuchen mit Phenol, im Gegensatze zu diesem Versuch mit p-Kresol, ganz unmotiviert mit einem besonders kleinen Bromüberschuß gearbeitet haben und daß darauf zum Teil die zu geringe Bromaufnahme zurückzuführen wäre.

Wie gesagt, geben aber S. und Z. beim Phenol nicht an, welche Mengen an Brom sie anwendeten und welche sie verbraucht hatten. Bei den Versuchen mit Mischungen von Phenol und p-Kresol wird ad III, A. die Menge der angewandten Bromat-Bromid-Lösung, sowie die Menge der zum Zurücktitrieren verbrauchten Kubikzentimeter Thiosulfat angegeben. Unter der Annahme, daß die verwendete Bromat-Bromid-Lösung die gleiche wie die ad I. benutzte war, läßt sich berechnen, daß S. und Z. bei diesem Versuch mit einem Bomüberschuß gearbeitet haben, der mehr als 80% von der verbrauchten Brommenge beträgt. (Bei den ad B. und C. angegebenen Versuchen, machen S. und Z. keine näheren Angaben über die verwendete und verbrauchte Brommenge[1].)

Wegen der Unvollständigkeit der Angaben hinsichtlich der Versuchsbedingungen läßt sich zunächst nur das eine feststellen, daß S. und Z. zweifellos hinsichtlich des anzuwendenden Bromüberschusses nach Gutdünken verfahren sind, indem sie einmal einen Überschuß von ca. 450% von der verbrauchten Brommenge, das anderemal von ca. 80% anwendeten, während D. und C. bei sämtlichen in Betracht kommenden Versuchen einen Bromüberschuß von rund 20 bis 35% der verbrauchten Brommenge angewendet hatten. Speziell in der Entgegnung auf

[1]) Ditz und Cedivoda haben auf S. 898 ff. ihrer Abhandlung die Untersuchung verschiedener Phenolgemische angeführt: bei Gemisch I., welches Phenol und o-Kresol enthielt, betrug der Bromüberschuß kaum 20% von der verbrauchten Brommenge. Bei dem Gemisch II., bestehend aus Phenol, p-Kresol und o-Kresol, betrug der Bromüberschuß rund 27% des verbrauchten Broms.

die Abhandlung von Russig und Fortmann hat der eine von uns bis zum Überdruß auf das wesentliche Moment der richtigen Bemessung des Bromüberschusses wieder hingewiesen und S. und Z. hätten diesen Umstand nicht übersehen können, wenn sie diese von ihnen nicht zitierte Abhandlung auch nur flüchtig gelesen hätten.

Damit soll aber nicht gesagt sein, daß diese eine wesentliche Abweichung von unseren Arbeitsbedingungen die ausschließliche Ursache ihrer unrichtigen Resultate ist. Trotz der sehr sparsam gemachten Angaben über ihre Arbeitsweise können wir doch noch auf einen nicht unwesentlichen Umstand hinweisen, der ebenfalls eine ganz willkürliche Abänderung unserer Versuchsbedingungen darstellt. Es ist dies die Konzentration der Salzsäure. In der Arbeit mit C. ist angegeben, daß für jeden Versuch 10 ccm Salzsäure (1:1) verwendet werden. Darunter versteht man doch allgemein eine Salzsäure, hergestellt aus gleichen Teilen der gewöhnlichen, konzentrierten Salzsäure (spez. Gew. 1,19 mit 37,23% HCl) und Wasser. S. und Z. haben nach ihren Angaben bei ihren Versuchen 10 ccm einer 12,5%igen Salzsäure verwendet, demnach wir um ca. 50% mehr HCl zugesetzt als sie. Daß die Menge und Konzentration der Salzsäure von Einfluß auf die Abscheidung des Broms aus der Bromat-Bromid-Lösung ist, darauf weist schon Kohlrausch (in seiner Abhandlung S. 239ff.) ausdrücklich hin[1]). Er führt dort Versuche über den Einfluß der Verdünnung und der Menge der Salzsäure auf die Geschwindigkeit der Reaktion der Bromat-Bromid-Lösung (mit HCl) bei Gegenwart von Kaliumjodid an. Diese Verhältnisse wurden später auch eingehend von H. Ditz und B. M. Margosches[2]) allgemein be-

[1]) Er hatte schließlich bei seiner Methode 5 ccm konz. Salzsäure angewandt; D. und C. hatten 10 ccm Salzsäure (1:1) verwendet, speziell auch aus dem Grunde, um die Erwärmung der Flüssigkeit durch den Zusatz der konz. Salzsäure wegen der Flüchtigkeit des Broms zu vermeiden.

[2]) H. Ditz und B. M. Margosches, Über den Einfluß der Wasserstoffionenkonzentration bei der Einwirkung der Halogenate, speziell des Jodats, auf die Halogenide. Zeitschr. f. angew. Chem. 14, 1082, 1901. Vgl. auch Gmelin-Kraut-Friedheim, Handbuch d. anorgan. Chem., 7. Aufl. (1909), Bd. I, Abt. 2 (bearbeitet von Hugo Ditz), S. 263 u. 266.

sprochen. Wie durch dort angeführte Versuche festgestellt wurde, ist eine bestimmte Wasserstoffionenkonzentration erforderlich, bevor überhaupt die Abscheidung des Broms aus einer Bromat-Bromid-Lösung beginnt und die Geschwindigkeit der Zersetzung nimmt mit steigender Wasserstoffionenkonzentration zu[1]). Da nun bei der von D. und C. angegebenen Arbeitsweise die Reaktionsdauer nur 1 Minute beträgt, so ist die Möglichkeit vorhanden, daß bei verminderter Salzsäurekonzentration in der gegebenen kurzen Zeit eine geringere Menge Brom zur Abscheidung gelangt, was wieder zu einer unvollständigeren Bromierung Anlaß geben könnte[2]).

Wir wollen nun zunächst die von uns neuerdings mit Phenol und p-Kresol durchgeführten Versuche mitteilen, um an der Hand derselben nochmals den Nachweis zu führen, daß man bei Einhaltung der von D. und C. seinerzeit angegebenen Versuchsbedingungen zu den von ihnen angegebenen Resultaten kommen muß, und anschließend daran eine größere Anzahl mit Gemischen von Phenol und p-Kresol durchgeführten Versuchen anführen und die dabei erhaltenen Resultate mit den nach den Beleganalysen von S. und Z. nach ihrer Methode erhaltenen Ergebnissen in Vergleich ziehen.

Die zu unseren Versuchen verwendeten (von Kahlbaum bezogenen) chemisch-reinen Präparate von Phenol und p-Kresol, wurden nach 2maliger Fraktionierung zur Einwage gebracht. Die Bromat-Bromid-Lösung wurde zunächst nach dem Vorschlage von Koppeschaar aus dem, nach dem Eindampfen von mit überschüssigem Brom versetzter Natronlauge erhaltenen, getrockneten Gemisch von Natriumbromat und Natriumbromid, in annähernd $^n/_{10}$-Lösung hergestellt und deren Wirkungswert durch Titration der aus einer bestimmten Menge der Lösung, bei Zusatz von Kaliumjodid und Salzsäure, aus-

---

[1]) Folgender Versuch ist in dieser Arbeit angegeben: „Wurden z. B. 50 ccm $^n/_{10}$-$KBrO_3$ und 25 ccm $^n/_{10}$-KBr verwendet, so mußten zirka 100 ccm $^n/_{10}$-Schwefelsäure zugegeben werden, bis das Auftreten einer schwach gelben Färbung bei zugefügtem Schwefelkohlenstoff den Eintritt der Reaktion anzeigte."

[2]) Daß die Säuremenge möglicherweise auch in anderer Hinsicht den Bromierungsvorgang beeinflussen könnte, wurde von W. Vaubel (a. a. O., S. 1032) festgestellt.

geschiedenen Jodmenge mittels einer annähernd $^n/_{10}$-Thiosulfatlösung ermittelt. Da die Genauigkeit der Versuche selbstverständlich von der Zuverlässigkeit des Titers der Thiosulfatlösung in erster Linie abhängt, so wurde diese auf zwei verschiedene Urtitersubstanzen eingestellt und der erhaltene Mittelwert als der richtige angenommen. Als Urtitersubstanzen verwendeten wir Kaliumjodat und Kaliumchlorat, letzteres nach dem Vorschlage und dem Verfahren von Ditz und Margosches[1]).

Die zu den folgenden Versuchen verwendete Thiosulfat-Lösung war 0,109835 n[2]) und 50 ccm der Natrium-Bromat-Bromid-Lösung = 54,08 ccm Thiosulfat-Lösung.

I. Versuche mit Anwendung einer aus Natronlauge und Brom hergestellten Bromat-Bromid-Lösung.

A. Bestimmung des Phenols nach der Arbeitsweise von Ditz und Cedivoda (im Vergleiche zu der von Koppeschaar) bei verschieden großem Bromüberschuß.

2,5460 g Phenol wurden in wenig verdünnter Natronlauge gelöst und die Lösung mit Wasser auf 1000 ccm aufgefüllt; von dieser Lösung wurden für die einzelnen Versuche bestimmte Mengen verwendet. — Nach der Arbeitsweise von D. und C. wurden zu der Phenollösung, nach Zusatz der bestimmten Menge Bromat-Bromid-Lösung, 10 ccm Salzsäure (1:1) hinzugefügt, genau 1 Minute geschüttelt, 20 ccm 5%iger Kaliumjodidlösung zugesetzt und nach 1stündigem Stehenlassen unter Lichtabschluß das ausgeschiedene Jod mit Thiosulfat-Lösung titriert[3]).

a) Angewandt: 25 ccm der Phenollösung = 0,06365 g Phenol und 50 ccm Bromat-Bromid-Lösung. Der Bromüber-

---

[1]) H. Ditz und B. M. Margosches, Zur Titerstellung in der Jodometrie. Zeitschr. f. angew. Chem. 16, 317, 1903.

[2]) Mit KJO_3 als Urtitersubstanz ergab sich der Faktor der Lösung zu 0,10980, mit $KClO_3$ zu 0,10987.

[3]) Nach der Methode von Koppeschaar wurde das durch den Salzsäurezusatz frei gemachte Brom 15 Minuten lang auf die Phenollösung zur Einwirkung gebracht und nach Zusatz der KJ-Lösung schon nach 10 Minuten titriert.

schuß beträgt 46,1% von der Menge des bei der Aufnahme von drei Atomen Brom verbrauchten Broms.

	Nach der Arbeitsweise von Ditz und Cedivoda.	
	1.	2.
Thios.-Lsg., verbr. f. d. Titration d. J.	17,23 ccm	17,18 ccm
Thios.-Lsg., entspr. d. verbr. Br. . .	36,85 „	36,90 „
Gefundene Menge Phenol	0,06345 g	0,06354 g
Fehler in g Phenol	— 0,00020 g	— 0,00011 g
Fehler in % Phenol	— 0,31%	— 0,17%

	Nach der Arbeitsweise von Koppeschaar.	
	3.	4.
Thios.-Lsg., verbr. f. d. Titration d. J.	17,0 ccm	17,22 ccm
Thios.-Lsg., entspr, d. verbr. Br. . .	37,08 „	36,86 „
Gefundene Menge Phenol	0,06385 g	0,06347 g
Fehler in g Phenol	+ 0,00020 g	— 0,00018 g
Fehler in % Phenol	+ 0,31%	— 0,28%

b) Angewandt: 28 ccm der Phenollösung = 0,071288 g Phenol und 50 ccm Bromatlösung; Bromüberschuß 30,4%.

	Nach Ditz und Cedivoda.	
	1.	2.
Thios.-Lsg., verbr. f. d. Titration d. J.	12,98 ccm	12,96 ccm
Thios.-Lsg., entspr. d. verbr. Br. . .	41,10 „	41,12 „
Gefundene Menge Phenol	0,07069 g	0,07072 g
Fehler in g Phenol	— 0,00060 g	— 0,00057 g
Fehler in % Phenol	— 0,84%	— 0,80%

	Nach Koppeschaar.	
	3.	4.
Thios.-Lsg., verbr. f. d. Titration d. J.	12,72 ccm	12,66 ccm
Thios.-Lsg., entspr. d. verbr. Br. . .	41,36 „	41,42 „
Gefundene Menge Phenol	0,07114 g	0,07124 g
Fehler in g Phenol	— 0,00015 g	— 0,00005 g
Fehler in % Phenol	— 0,21%	— 0,07%

c) Angewandt: 30 ccm Phenollösung = 0,07638 g Phenol und 50 ccm Bromatlösung; Bromüberschuß 21,9%.

	Nach Ditz und Cedivoda.	
	1.	2.
Thios.-Lsg., verbr. f. d. Titration d. J.	10,28 ccm	10,28 ccm
Thios.-Lsg., entspr. d. verbr. Br. . .	43,80 „	43,80 „
Gefundene Menge Phenol	0,07534 g	0,07534 g
Fehler in g Phenol	— 0,00104 g	— 0,00104 g
Fehler in % Phenol	— 1,36%	— 1,36%

	Nach Koppeschaar.	
	3.	4.
Thios.-Lsg., verbr. f. d. Titration d. J.	9,89 ccm	9,80 ccm
Thios.-Lsg., entspr. d. verbr. Br. . .	44,19 „	44,28 „
Gefundene Menge Phenol	0,07600 g	0,07616 g
Fehler in g Phenol	— 0,00038 g	— 0,00022 g
Fehler in % Phenol	— 0,50%	— 0,29%

Aus den vorstehenden Versuchsergebnissen ist zu ersehen, daß nach der Arbeitsweise von D. und C. die Differenzen gegenüber den theoretischen Werten um so geringer werden, je größer der angewandte Bromüberschuß ist[1]). Die mittleren Fehler betragen:

Bei 21,9% Bromüberschuß . . — 1,36%
„ 30,4 „ „ . . — 0,82 „
„ 46,1 „ „ . . — 0,24 „

In der Abhandlung des einen von uns mit C. wurden bei dem angegebenen Versuch 4 (bei einem Bromüberschuß von 28,4%) für 1 Mol. Phenol 2,978 Atome Br aufgenommen. Das entspricht einer Differenz von — 0,73% Phenol, was in befriedigender Übereinstimmung mit dem obigen Befund steht, wonach bei 30,4% Bromüberschuß eine Differenz von — 0,82% festgestellt wurde. Damit haben die diesbezüglichen Angaben von D. und C. eine neuerliche Bestätigung erfahren, und damit ist nochmals erwiesen, daß die abweichenden Ergebnisse von S. und Z. mit einem mittleren Fehler von — 4,35% zweifellos auf Nichteinhaltung der angegebenen Versuchsbedingungen in der schon angedeuteten Richtung zurückzuführen sind.

[1]) Ebenso werden auch die Differenzen gegenüber den nach der Methode von Koppeschaar erhaltenen Werten mit zunehmendem Bromüberschuß geringer, indem dieser die Resultate hier nur wenig beeinflußt.

B. Bestimmung des p-Kresols nach der Arbeitsweise von Ditz und Cedivoda.

Bei dieser (bei den Versuchen mit Phenol angegebenen Arbeitsweise) werden von diesem 3 Atome, von p-Kresol 2 Atome Brom per Molekül aufgenommen.

2,7411 g p-Kresol wurden in wenig verdünnter Natronlauge gelöst und die Lösung mit Wasser auf 500 ccm aufgefüllt.

a) Angewandt: 22,50 ccm der Kresollösung = 0,123349 g p-Kresollösung.

Da für diese Kresolmenge bei der Aufnahme von 2 Atomen Brom per Molekül Kresol dem verbrauchten Brom 41,56 ccm Thiosulfat theoretisch entsprechen sollen, so beträgt bei Anwendung von 50 ccm der Natriumbromat-Bromid-Lösung = 54,08 ccm Thiosulfat der Bromüberschuß 30,1% des verbrauchten Broms.

	1.	2.	3.
Thios.-Lsg., verbr. f. d. Titration d. J. .	10,00 ccm	10,80 ccm	11,60 ccm
Thios.-Lsg., entspr. d. verbr. Br . . .	44,08 ccm	43,28 ccm	42,48 ccm
Gefund. Menge Kresol	0,13082 g	0,12844 g	0,12607 g
Fehler in g Kresol .	+ 0,00747 g	+ 0,00509 g	+ 0,00272 g
Fehler in % Kresol	+ 6,06%	+ 4,13%	+ 2,20%

	4.	5.
Thios.-Lsg., verbr. f. d. Titration d. J. .	12,63 ccm	12,09 ccm
Thios.-Lsg., entspr. d. verbr. Br . . .	41,45 ccm	41,99 ccm
Gefund. Menge Kresol	0,12302 g	0,12461 g
Fehler in g Kresol .	— 0,00033 g	+ 0,00126 g
Fehler in % Kresol	— 0,27%	+ 1,02%

Die größeren Differenzen der Versuchsergebnisse untereinander, sowie der relativ große Fehler speziell bei Versuch 1 sind darauf zurückzuführen, daß selbst bei Einhaltung gleicher Versuchsbedingungen beim p-Kresol neben dem als Hauptprodukt entstehenden Dibromprodukt unter Umständen gewisse Mengen eines Tribromderivats entstehen können, das in größerer oder geringerer Menge (je nach dem angewandten Bromüberschuß, der Einwirkungszeit und wohl auch noch abhängig von anderen unbekannten Faktoren) in das Dibromkresolbrom[1]) umgelagert

[1]) Vgl. diesbezüglich auch nähere Angaben in den früher zitierten Arbeiten. — Den Versuch 1 (mit dem bedeutenden Fehler von + 6,06%)

wird, das dann das dritte Bromatom unvollständig bzw. nur langsam an das Kaliumjodid unter J-Abscheidung abgibt.

Der mittlere Fehler dieser fünf Versuche ergibt sich zu rund 2,7 %. Nach Versuch 2 (S. 875) der Arbeit von D. und C. (der, wie alle dort angegebenen Versuche, einen Mittelwert aus mehreren durchgeführten Versuchen bildet) wurde bei Anwendung eines Bromüberschusses von etwas über $^1/_3$ des verbrauchten Broms für 1 Mol. p-Kresol 2,08 Atome Brom aufgenommen, entsprechend einer Abweichung von $+4$ %. Der Fehler war hier, entsprechend dem größeren Bromüberschuß, größer als der mittlere Fehler bei den obigen Versuchen. Daß beim p-Kresol, im Gegensatze zum Phenol, die auftretenden Differenzen gegenüber dem theoretischen Wert bei abnehmendem Bromüberschuß geringer werden[1]), ergibt sich aus der folgenden Versuchsreihe.

b) Angewandt: 23,5 ccm Kresollösung = 0,12883 g p-Kresol. Dem verbrauchten Brom sollen theoretisch 43,41 ccm Thiosulfat entsprechen, wonach der Bromüberschuß bei Anwendung von 50 ccm Bromatlösung 24,6 % beträgt.

---

haben wir absichtlich auch angeführt, obwohl dieses Resultat aus den bei sämtlichen mit p-Kresol durchgeführten Versuchen beobachteten Fehlergrenzen stark herausfällt und das ungünstige Resultat möglicherweise auf einen Arbeitsfehler zurückzuführen ist. Hier sei auch bemerkt, daß bei allen Versuchen ein gewisser, unvermeidlicher Fehler entsteht durch das bei Zusatz der Salzsäure und der Kaliumjodidlösung während des Lüftens des Glasstopfens (der etwa 500 ccm fassenden Flasche) aus dem Reaktionsgefäß entweichende Brom; dieser Fehler wird um so kleiner sein, je rascher diese Operationen durchgeführt werden, und würde sich eventuell ganz vermeiden lassen, wenn man einen für den speziellen Zweck entsprechend modifizierten Apparat verwenden würde, wie er für die Bestimmung des Chlorats von dem einen von uns empfohlen worden ist. Vgl. H. Ditz und H. Knöpfelmacher, Zeitschr. f. angew. Chem. 12, 1195, 1899; H. Ditz, Chem.-Ztg. 22, 727, 1901; H. Ditz und B. M. Margosches, Zeitschr. f. angew. Chem. 16, 320, 1903.

[1]) Dies ergab sich auch schon beim Versuch 14 von D. und C., bei dem wie bei Versuch 2 verfahren wurde, nur mit dem Unterschiede, daß die Menge der Bromat-Bromid-Lösung verringert wurde. (In der Abhandlung steht irrtümlich „vergrößert wurde"; der Bromüberschuß war aber dabei, wie sich berechnen läßt, um ca. 5 % kleiner.) Bei diesem Versuch ergab sich im Mittel aus vier Versuchen eine Bromaufnahme von 1,975 Atomen Brom für 1 Molekül p-Kresol, demnach der Fehler zu $-1{,}25$ %.

	1.	2.	3.
Thios.-Lsg., verbr. f. d. Titration d. J. .	11,40 ccm	11,40 ccm	10,36 ccm
Thios.-Lsg., entspr. d. verbr. Br . . .	42,68 ccm	42,68 ccm	43,72 ccm
Gefund. Menge Kresol	0,12667 g	0,12667 g	0,12973 g
Fehler in g Kresol .	— 0,00216 g	— 0,00216 g	+ 0,00090 g
Fehler in % Kresol	— 1,68 %	— 1,68 %	+ 0,70 %

C. Gemische von Phenol und p-Kresol.

a) Angewandt: 28,0 ccm Phenollösung = 0,07129 g Phenol und 22,5 ccm Kresollösung = 0,12335 g Kresol, 100 ccm der Natriumbromat-Bromid-Lösung und 20 ccm der Salzsäure (1:1)[1]) (Bromüberschuß 30,3 %).

Bei drei Versuchen wurde zum Zurücktitrieren verbraucht: 24,60, 24,26, 24,72 ccm, das ist i. M. 24,53 ccm Thiosulfatlösung. Dem verbrauchten Brom entsprechen demnach 108,16 — 24,53 = 83,63 ccm Thiosulfat, dem aufgenommenen Br 41,81 ccm Thios. = 0,36693 g Br.

Die Menge des p-Kresols ergibt sich nach der Formel: $y = \frac{2{,}5493\,a - b}{1{,}0700}$, wobei a dem bekannten Gewichte des Phenolgemisches, b dem aufgenommenem Brom entspricht[2]). Die Menge des Phenols (x) läßt sich dann aus der Gleichung: $x = a - y$ berechnen. ($a = 0{,}19464$; $b = 0{,}36693$.)

---

[1]) 20 ccm Salzsäure wurden hier entsprechend den 100 ccm Bromatlösung (statt wie sonst 50 ccm) verwendet, ebenso wurden statt 20 ccm dementsprechend 40 ccm 5%iger KJ-Lösung zugefügt; im übrigen wurde hier wie bei den folgenden Gemischen nach der Methode von D. und C. verfahren.

[2]) Die angegebene Formel für y ergibt sich aus den beiden Gleichungen: $x + y = a$ und $\frac{3\,\text{Br}}{\text{Phenol}} \cdot x + \frac{2\,\text{Br}}{\text{Kresol}} \cdot y = b$. In der Abhandlung von D. und C. war die Formel auf die damals (1899) gültigen Atomgewichte berechnet zu: $y = \frac{2{,}5503\,a - b}{1{,}0705}$. — Wir haben bei sämtlichen Gemischen gleichzeitig mehrere Versuche durchgeführt und den erhaltenen Mittelwert der Berechnung zugrunde gelegt. Sowohl bei obigem als auch bei der Mehrzahl der im folgenden angegebenen Gemische ist die Übereinstimmung der Resultate bei den einzelnen Versuchen des betreffenden Gemisches untereinander weit günstiger, als dies bei den Versuchen mit p-Kresol allein der Fall ist. Dies ergab sich auch seinerzeit bei den Versuchen von Ditz und Cedivoda und läßt sich zum Teil auf eine Kompensation der mit den einzelnen Bestandteilen der Gemische unter den gewählten Versuchsbedingungen beobachteten Differenzen (gegenüber den theoretischen Werten) zurückführen.

	Gef. g	Angew. g	Fehler g	Absol. Fehler %
Kresol:	0,12080	0,12335	— 0,00255	— 2,07
Phenol:	0,07384	0,07129	+ 0,00255	— 3,57

Das Gemisch enthält: 63,38% Kresol und 36,62% Phenol,
gefunden: 62,06 „ „ „ 37,94 „ „

Der relative Fehler (bezogen auf das Phenolgemisch) beträgt daher $\pm 1{,}32\%$.[1])

Vergleichen wir die erzielte Übereinstimmung mit den von Siegfried und Zimmermann bei einem ähnlich zusammengesetzten Gemisch (Versuch 3, auf Seite 387 ihrer Abhandlung) nach ihrer Methode ermittelten Resultaten:

	Gef. g	Angew. g	Absol. Fehler %
Kresol:	0,0249	0,0263	— 5,3
Phenol:	0,0199	0,0190	+ 4,7

Obwohl dieses Gemisch 58% Kresol und 42% Phenol enthält, also für die erzielbare Genauigkeit in den Resultaten etwas günstiger zusammengesetzt ist, so ist trotzdem das Ergebnis unserer Bestimmung ein besseres.

b) Angewandt: 15 ccm Phenollösung = 0,03819 g Phenol und 11,7 ccm Kresollösung = 0,06414 g Kresol mit 50 ccm Natriumbromatlösung, 10 ccm Salzsäure (1 : 1). (Bromüberschuß: 23,5%.)

[1]) In der Abhandlung von D. und C. ist (S. 898) die Untersuchung eines Gemisches (II) angegeben, das 0,03064 g Phenol, 0,03267 g p-Kresol und 0,01685 g o-Kresol enthielt, und wobei die Menge des Phenols und die Summe von o- und p-Kresol ermittelt wurden. Bei Anwendung eines Bromüberschusses von rund 27% betrug der relative Fehler der ermittelten Werte $\pm 0{,}57\%$. — In einer kürzlich erschienenen, sehr lesenswerten Schrift von Juan Fages y Virgili, „Die indirekten Methoden der analytischen Chemie", deutsch herausgegeben von W. Mecklenburg (Sammlung chemischer und chemisch-technischer Vorträge, Bd. 16, Heft 11/12, 1911) wird (S. 463) darauf hingewiesen, daß eine einheitliche Bezeichnungsweise für die Fehler chemischer Analysen nicht existiert. Der Verfasser bezeichnet die (positive oder negative) Differenz zwischen der experimentell gefundenen Größe und ihrem wahren Werte als „konkreten Fehler" und den Quotienten aus dem konkreten Fehler und dem wahren Werte als relativen Fehler. Wir halten die oben und in der Folge angewendete Bezeichnungsweise der Fehler hier für zweckmäßiger, bezeichnen also den auf den zu bestimmenden Bestandteil bezogenen „konkreten" Fehler als „absoluten Fehler" (in Prozenten) und den auf das Phenolgemisch bezogenen prozentuellen Fehler als „relativen Fehler".

Bei drei Versuchen wurde zum Zurücktitrieren verbraucht: 10,90, 10,57, 10,53 ccm Thios.; dem verbrauchten Brom entsprechen daher 43,18, 43,51, 43,55 ccm, das ist i. M. 43,41 ccm Thios. = 0,38097 g Br. Demnach ist $b = 0{,}190485$; $a = 0{,}102331$.

	Gef. g	Angew. g	Fehler g	Absol. Fehler %
Kresol:	0,06578	0,06414	+ 0,00164	+ 2,55
Phenol:	0,03655	0,03819	— 0,00164	— 4,30

Das Gemisch enthält: 62,68% Kresol und 37,32% Phenol,
gefunden: 64,28 „ „ „ 35,71 „ „

Der relative Fehler (bezogen auf das Phenolgemisch) beträgt demnach $\pm 1{,}61\%$.

Die Übereinstimmung mit den Sollwerten ist hier (absolut) nur wenig verschieden von der bei dem vorhergehenden Versuch mit 30% Bromüberschuß.

c) Angewandt: 25 ccm Phenollösung = 0,06365 g Phenol, 2,5 ccm Kresollösung = 0,013705 g p-Kresol und 50 ccm Bromatlösung. (Bromüberschuß: 30%.)

Bei drei Versuchen wurde zum Zurücktitrieren verbraucht: 12,88, 12,88, 12,53 ccm Thios.; dem verbrauchten Brom entsprechen i. M. 41,32 ccm Thiosulfat. $b = 0{,}181130$; $a = 0{,}077355$.

	Gef. g	Angew. g	Fehler g	Absol. Fehler %
Kresol:	0,01485	0,013705	+ 0,001145	+ 8,36
Phenol:	0,062505	0,063650	— 0,001145	— 1,80

Das Gemisch enthält: 17,71% Kresol und 82,29% Phenol,
gefunden: 19,19 „ „ „ 80,81 „ „

Der relative Fehler (bezogen auf das Phenolgemisch) beträgt demnach $\pm 1{,}48\%$.

Vergleichen wir wieder das Ergebnis dieses Versuchs mit dem von Siegfried und Zimmermann bei Untersuchung eines analog zusammengesetzten Gemisches (Versuch 7, auf Seite 387 ihrer Abhandlung). Nach ihrer Methode erhielten sie bei diesem Gemisch, das 82,8% Kresol und 17,2% Phenol enthielt, folgende Resultate:

	Gef. g	Angew. g	Absol. Fehler %
Kresol:	0,0100	0,0079	+ 26,6
Phenol:	0,0364	0,0380	— 4,2

Die absoluten Fehler sind also nach den von S. und Z. nach ihrer Methode erhaltenen Resultaten beim Kresol mehr als 3mal, beim Phenol mehr als 2mal so groß als die von uns nach unserer Methode erzielten Differenzen. Der relative Fehler beim Kresol beträgt + 4,6%, indem statt 17,2% Kresol 21,8% gefunden wurden.

Die bisher angegebenen Versuche (mit Anwendung von aus Natronlauge und Brom hergestellter Natriumbromat-Bromid-Lösung) bestätigen demnach die seinerzeit von Ditz und Cedivoda gemachten Angaben hinsichtlich der Bromaufnahme von Phenol und p-Kresol bei Einhaltung der dort angegebenen und gelegentlich der späteren Veröffentlichung (a. a. O.) von dem einen von uns wiederholt hervorgehobenen Versuchsbedingungen. Die Versuche mit den Gemischen zeigen nicht nur, daß die Arbeitsweise von D. und C. mit, für eine indirekte Methode dieser Art hinreichender Genauigkeit zur Bestimmung von Phenol und p-Kresol in ihren Gemischen brauchbar erscheint, sondern daß die erzielte Genauigkeit weit größer ist, als die von S. und Z. bei den in ihrer Abhandlung angegebenen Versuchsergebnissen mit ihrer Methode erreichte.

Für die im vorstehenden angegebenen Versuche hatten wir, wie angegeben, die Bromat-Bromid-Lösung aus Natronlauge und Brom hergestellt, während Siegfried und Zimmermann eine Lösung verwendeten, die sie aus chemisch reinem Kaliumbromat und Kaliumbromid herstellten. Koppeschaar hatte seinerzeit vergleichende Versuche mit (aus den Ätzalkalien und Brom hergestellten) Natriumbromat-Bromid- und Kaliumbromat-Bromid-Lösungen durchgeführt und dabei günstigere Ergebnisse mit der Natriumbromatlösung erhalten, dieser also den Vorzug gegeben. Er führte die Verschiedenheit der Resultate mit den beiden Lösungen auf die Unreinheit des verwendeten Ätzkalis (im Vergleich zum Ätznatron) zurück. Obwohl dieses Moment bei der Verwendung von chemisch reinem Kaliumbromat und Kaliumbromid wegfällt, so hielten wir es doch nicht für überflüssig, die Versuche auch mit einer Kaliumbromat-Bromid-Lösung durchzuführen, speziell aus dem Grunde, weil die aus Natronlauge und Brom hergestellte Lösung ein etwas verschiedenes Verhältnis von Bromat zu Bromid als die aus Kaliumbromat und Kaliumbromid hergestellte haben könnte[1]).

[1]) Tatsächlich erhielten wir, wie aus den im folgenden angeführten Versuchen zu ersehen ist, mit der aus (chemisch reinem) $KBrO_3$ und KBr hergestellten Lösung noch günstigere Resultate. Wir haben bisher noch keine Versuche durchgeführt, um die Ursachen dieses verschiedenen Verhaltens der beiden Lösungen festzustellen.

Wir stellten uns daher eine Lösung aus rund 8,35 g $KBrO_3$ und 31 g KBr im Liter her[1]); ebenso wurde bei den folgenden Versuchen eine andere Thiosulfatlösung verwendet, deren Titer wieder auf Kaliumjodat und Kaliumchlorat gestellt wurde. Der mittlere Wert für den Faktor der Thios.-Lösung ergab sich zu 0,098598[2]) und 50 ccm Kaliumbromat-Bromid-Lösung = 51,06 ccm Thios.-Lösung.

II. Versuche mit Anwendung der aus Kaliumbromat und Kaliumbromid hergestellten Bromat-Bromid-Lösung.

A. Bestimmung des Phenols nach der Arbeitsweise von Ditz und Cedivoda (im Vergleich zu der von Koppeschaar).

a) Zunächst wurde die früher verwendete Phenollösung weiter benutzt. — Angewandt: 23,85 ccm Phenollösung = 0,06071 g Phenol und 50 ccm Kaliumbromat-Bromid-Lösung. (Bromüberschuß: 30%.)

	Nach Ditz und Cedivoda.		
	1.	2.	3.
Thios.-Lsg., verbr. f. d. Titration d. J. .	11,95 ccm	11,84 ccm	11,81 ccm
Thios.-Lsg., entspr. d. verbr. Br	39,11 ccm	39,22 ccm	39,25 ccm
Gefund. Menge Phenol	0,06043 g	0,06060 g	0,06065 g
Fehler in g Phenol .	— 0,00028 g	— 0,00011 g	— 0,00006 g
Fehler in % Phenol .	— 0,46%	— 0,18%	— 0,10%

	Nach Koppeschaar.	
	4.	5.
Thios.-Lsg., verbr. f. d. Titration d. J. .	11,53 ccm	11,46 ccm
Thios.-Lsg., entspr. d. verbr. Br	39,53 ccm	39,60 ccm
Gefund. Menge Phenol	0,06108 g	0,06118 g
Fehler in g Phenol .	+ 0,00037 g	+ 0,00047 g
Fehler in % Phenol .	+ 0,61%	+ 0,77%

[1]) Die von S. und Z. hergestellte Bromat-Bromid-Lösung enthielt nach ihrer Angabe im Liter 0,834 g $KBrO_3$ und 2,97 g KBr, war also wohl verdünnter, enthielt aber $KBrO_3$ zu KBr ungefähr in gleichem, Verhältnis als unsere Lösung.

[2]) Mit KJO_3 als Urtitersubstanz ergab sich der Faktor zu: 0,09860 mit $KClO_3$ zu: 0,098596.

b) Es wurde eine neue Phenollösung hergestellt, enthaltend 2,5137 g in 1000 ccm. — Angewandt: 24,15 ccm der Lösung = 0,06071 g Phenol und 50 ccm Kaliumbromat-Bromid-Lösung. (Bromüberschuß: 30%).

	Nach Ditz und Cedivoda.		
	1.	2.	3.
Thios.-Lsg., verbr. f. d. Titration d. J. .	12,12 ccm	11,91 ccm	11,85 ccm
Thios.-Lsg., entspr. d. verbr. Br	38,94 ccm	39,15 ccm	39,21 ccm
Gefund. Menge Phenol	0,06016 g	0,06049 g	0,06059 g
Fehler in g Phenol .	— 0,00055 g	— 0,00022 g	— 0,00012 g
Fehler in % Phenol .	— 0,90%	— 0,36%	— 0,2%

	Nach Koppeschaar.	
	4.	5.
Thios.-Lsg., verbr. f. d. Titration d. J. .	11,59 ccm	11,44 ccm
Thios.-Lsg., entspr. d. verbr. Br.	39,47 ccm	39,62 ccm
Gefund. Menge Phenol	0,06099 g	0,06121 g
Fehler in g Phenol .	+ 0,00028 g	+ 0,00050 g
Fehler in % Phenol .	+ 0,46%	+ 0,82%

Nach den ad a und b angeführten Versuchen sind nach der Arbeitsweise von D. und C. bei Verwendung der Kaliumbromatlösung die erzielten Differenzen gegenüber den theoretischen Werten geringer als bei den analogen Versuchen mit der Natriumbromatlösung. Bei dieser betrug der mittlere Fehler (bei einem Bromüberschuß von 30,4%) — 0,82%, während hier aus den 6 Versuchen der mittlere Fehler sich zu — 0,37% ergeben würde[1]).

c) Angewandt: 24,15 ccm der (ad b angegebenen) Phenollösung = 0,06071 g Phenol und 48 ccm der Kaliumbromat-Bromid-Lösung. (Bromüberschuß: 24,8%.)

[1]) Bei obigen vier, nach der Methode von Koppeschaar durchgeführten Versuchen ergab sich der mittlere Fehler zu + 0,66%, während die analogen Versuche mit Natriumbromatlösung einen mittleren Fehler von — 0,14% ergaben. Bei den von Koppeschaar (a. a. O.) angegebenen Versuchen betrug der Fehler bei Natriumbromatlösung — 0,5 bis — 0,8%, bei Kaliumbromatlösung (bei sehr verschiedener Reaktionsdauer und wechselndem Bromüberschuß) — 0,9 bis + 0,3%.

	Nach der Arbeitsweise von Ditz und Cedivoda.	
	1.	2.
Thios.-Lsg., verbr. f. d. Titration d. J.	10,10 ccm	9,97 ccm
Thios.-Lsg., entspr. d. verbr. Br . .	38,92 ccm	39,05 ccm
Gefundene Menge Phenol	0,060166 g	0,06037 g
Fehler in g Phenol	— 0,00054 g	— 0,00034 g
Fehler in % Phenol	— 0,90%	— 0,56%

Es zeigt sich also wieder eine Zunahme des mittleren Fehlers mit abnehmendem Bromüberschuß (wie bei den Versuchen mit der Natriumbromatlösung).

B. Bestimmung des p-Kresols nach der Arbeitsweise von Ditz und Cedivoda.

a) Zunächst wurde die bei den Versuchen ad I. B. benutzte Kresollösung verwendet. — Angewandt: 19,1 ccm Kresollösung = 0,10464 g Kresol und 50 ccm Kaliumbromatlösung. (Bromüberschuß: 30%.)

	1.	2.
Thios.-Lsg., verbr. f. d. Titration d. J.	12,14 ccm	11,43 ccm
Thios.-Lsg., entspr. d. verbr. Br . .	38,92 ccm	39,63 ccm
Gefundene Menge Kresol	0,10367 g	0,10558 g
Fehler in g Kresol	— 0,00097 g	+ 0,00094 g
Fehler in % Kresol	— 0,93%	+ 0,90%

b) Es wurde eine andere Kresollösung verwendet, enthaltend 2,6356 g p-Kresol in 500 ccm. — Angewandt: 19,85 ccm der Lösung = 0,10464 g Kresol und 50 ccm Bromatlösung. (Bromüberschuß 30%.)

	1.	2.
Thios.-Lsg., verbr. f. d. Titration d. J.	10,50 ccm	11,67 ccm
Thios.-Lsg., entspr. d. verbr. Br . .	40,56 ccm	39,39 ccm
Gefundene Menge Kresol	0,10805 g	0,10493 g
Fehler in g Kresol	+ 0,00341 g	+ 0,00029 g
Fehler in % Kresol	+ 3,26%	+ 0,28%
	3.	4.
Thios.-Lsg., verbr. f. d. Titration d. J.	10,54 ccm	11,72 ccm
Thios.-Lsg., entspr. d. verbr. Br . .	40,52 ccm	39,34 ccm
Gefundene Menge Kresol	0,10794 g	0,10480 g
Fehler in g Kresol	+ 0,00330 g	+ 0,00016 g
Fehler in % Kresol	+ 3,16%	+ 0,16%

Ähnlich wie beim Phenol ergibt sich eine Verminderung des durchschnittlichen Fehlers gegenüber dem theoretischen Wert bei Verwendung der Kaliumbromat-Bromid-Lösung im Vergleich zu den mit der Natriumbromat-Bromid-Lösung erhaltenen Werten. Während bei den obigen Versuchen der durchschnittliche Fehler +1,71% beträgt, betrug er bei den ad I. B. a mit Natriumbromat durchgeführten 6 Versuchen im Mittel +2,7%.

c) Es wurde eine dritte Kresollösung verwendet, enthaltend 2,6940 g in 500 ccm. — Angewandt: 19,42 ccm der Lösung = 0,10464 g Kresol und 48 ccm Kaliumbromatlösung. (Bromüberschuß: 24,8%.)

	1.	2.	3.
Thios.-Lsg., verbr. f. d. Titration d. J. .	9,95 ccm	9,43 ccm	9,29 ccm
Thios.-Lsg., entspr. d. verbr. Br	39,07 ccm	39,59 ccm	39,73 ccm
Gefund. Menge Kresol	0,10408 g	0,10546 g	0,10584 g
Fehler in g Kresol .	−0,00056 g	+0,00082 g	+0,00120 g
Fehler in % Kresol .	−0,54%	+0,79%	+1,13%

Auch hier zeigt sich also eine größere Annäherung an den theoretischen Wert bei Verwendung der Kaliumbromat-Bromid-Lösung einerseits und bei Verminderung des Bromüberschusses andererseits (vgl. die Versuche I. B. b).

C. Gemische von Phenol und p-Kresol.

a) Fünf Versuche wurden durchgeführt mit je 0,030355 g Phenol, 0,05232 g Kresol und 50 ccm Kaliumbromat-Bromid-Lösung. (Bromüberschuß: 30%.)

Zur Titration wurden verbraucht: 11,54, 11,57, 11,39, 11,33, 11,54 ccm, das ist i. M. 11,47 ccm Thiosulfat. Dem verbrauchten Brom entsprechen demnach 51,06 − 11,47 = 39,59 ccm Thiosulfat. $b = 0{,}15594$; $a = 0{,}082675$.

	Gef. g	Angew. g	Fehler g	Absol. Fehler %
Kresol:	0,05123	0,05232	−0,00109	−2,08
Phenol:	0,031445	0,030355	+0,00109	+3,59

Das Gemisch enthält: 63,28% Kresol und 36,72% Phenol,
gefunden: 61,96% „ „ 38,04% „
Der relative Fehler beträgt demnach ±1,32%.

Das vorliegende Gemisch ist von annähernd gleicher Zusammensetzung wie das ad I. C. a angegebene; die Übereinstimmung der gefundenen mit den Sollwerten ist auch in beiden Fällen fast die gleiche.

b) Fünf Versuche wurden durchgeführt mit je 0,045839 g Phenol, 0,025634 g Kresol und 50 ccm Kaliumbromatlösung. (Bromüberschuß: 30%.)

Zur Titration wurden verbraucht: 11,90, 11,80, 11,70, 11,67, 11,48 ccm, das ist i. M. 11,71 ccm Thiosulfat. Dem verbrauchten Brom entsprechen demnach 51,06 — 11,71 = 39,35 ccm Thiosulfat. $b = 0{,}154995$; $a = 0{,}071473$.

	Gef. g	Angew. g	Fehler g	Absol. Fehler %
Kresol:	0,025435	0,025634	— 0,000199	— 0,78
Phenol:	0,046038	0,045839	+ 0,000199	+ 0,43

Das Gemisch enthält: 35,87% Kresol und 64,13% Phenol,
gefunden: 35,59% „ „ 64,41% „
Der relative Fehler beträgt demnach $\pm 0{,}28$%.

Das vorliegende Gemisch ist von gleicher Zusammensetzung wie das von Siegfried und Zimmermann auf S. 387 ihrer Abhandlung im Versuch 5 angegebene, indem bei beiden Gemischen Phenol und Kresol in gleichem Verhältnis stehen. S. und Z. erhielten bei der Untersuchung dieses Gemisches nach ihrer Methode folgende Resultate:

	Angew. g	Gef. g	Absol. Fehler %
Kresol:	0,0210	0,0183	— 12,8
Phenol:	0,0380	0,0397	+ 4,5

Die Differenzen gegenüber den Sollwerten sind also nach den von S. und Z. erhaltenen Resultaten beim Kresol mehr als 16mal, beim Phenol mehr als 10mal so groß als die nach unseren Versuchsergebnissen[1]).

c) Wiederholung der vorstehenden (ad b) durchgeführten Versuche mit dem Unterschiede, daß nur 48 ccm Kaliumbromat-Bromid-Lösung angewendet wurden, entsprechend einem Bromüberschuß von 24,8%.

Bei zwei Versuchen wurden zur Titration verbraucht: 9,87, 9,61 ccm, das ist i. M. 9,74 ccm Thiosulfat. Dem verbrauchten Brom entsprechen: 51,06 — 9,74 = 39,28 ccm Thiosulfat. $b = 0{,}154715$; $a = 0{,}071473$.

	Gef. g	Angew. g	Fehler g	Absol. Fehler %
Kresol:	0,025697	0,025634	+ 0,00006	+ 0,25
Phenol:	0,045776	0,045839	— 0,00006	— 0,13

Das Gemisch enthält: 35,87% Kresol und 64,13% Phenol,
gefunden: 35,95% „ „ 64,05% „
Der relative Fehler beträgt $\pm 0{,}08$%.

[1]) Der relative Fehler beim Kresol beträgt nach den Resultaten von S. und Z. —4,6%, indem das Gemisch 35,6% Kresol enthält und nur 31,0% gefunden wurden.

Die Übereinstimmung ist also bei rund 25% Bromüberschuß eine bessere, als bei 30% Bromüberschuß.

d) 1. Drei Versuche wurden durchgeführt mit je 0,00937 g Phenol, 0,08841 g Kresol und 48 ccm Kaliumbromatlösung. (Bromüberschuß: 24,8%.)

Zur Titration wurde verbraucht: 9,78, 9,75, 9,02 ccm, das ist i. M. 9,52 ccm Thiosulfat; dem verbrauchten Brom entsprechen daher 39,50 ccm Thiosulfat. $b = 0{,}15559$; $a = 0{,}09778$.

	Gef.	Angew.	Fehler	Absol. Fehler
	g	g	g	%
Kresol:	0,08754	0,08841	— 0,00087	— 0,98
Phenol:	0,01024	0,00937	+ 0,00087	+ 9,28

Das Gemisch enthält: 90,42% Kresol und 9,58% Phenol,
gefunden: 89,52% „ „ 10,48% „
Der relative Fehler beträgt demnach $\pm 0{,}90\%$.

Siegfried und Zimmermann erhielten bei der Untersuchung eines Gemisches, das ebenfalls 90,4% Kresol und 9,6% Phenol enthielt (Versuch 1 der dritten Versuchsreihe auf Seite 379 ihrer Abhandlung), die folgenden Resultate:

	Gef.	Angew.	Absol. Fehler
	g	g	%
Kresol:	0,0346	0,0358	— 3,5
Phenol:	0,0049	0,0038	+ 29,0

Hier zeigt sich also wieder, daß man nach der Arbeitsweise von D. und C. bedeutend genauere Werte erhält, als nach der Methode von S. und Z., indem nach dieser die Fehler mehr als 3mal so groß sind, als die bei obigem Versuch von uns erhaltenen[1]).

Wir führten mit dem gleichen Gemisch auch eine Versuchsreihe mit größerem Bromüberschuß (30%) durch, wobei das Resultat ein ungünstigeres war. Dies ist darauf zurückzuführen, daß in dem vorliegenden Gemisch das Kresol in überwiegender Menge vorhanden ist und, wie aus den ad B. angeführten Versuchen hervorgeht, bei einem Bromüberschuß von rund 25% die Annäherung an den theoretischen Wert (entsprechend einer Bromaufnahme von 2 Atomen Brom per Molekül p-Kresol) eine größere ist, als bei 30% Bromüberschuß.

Hier wirft sich nun die Frage auf, ob und in welcher Weise man denn bei einem Gemisch von unbekannter Zusammensetzung den günstigsten anzuwendenden Bromüberschuß er-

[1]) Der relative Fehler (nach S. und Z.) beträgt hier + 2,8% beim Phenol, indem statt 9,6% Phenol 12,4% gefunden wurden; beim Kresol beträgt der relative Fehler — 3,1% (statt 90,4% wurden 87,3% Kresol gefunden).

mitteln könne. Diesbezüglich hatte für die Bestimmung des m-Kresols in Kresolgemischen der eine von uns bereits[1]) angegeben, daß man einen Vorversuch bei der Annahme, das Kresolgemisch bestehe nur aus m-Kresol, vornehmen und dabei die diesem entsprechende Brommenge, das ist per Molekül 3 Moleküle Brom, für den Vorversuch verwenden soll. Dieser wird nun in der üblichen Weise durchgeführt, nur mit dem Unterschiede, daß nach dem Zusatz von KJ schon nach einigen Minuten titriert wird[2]).

Das dort angegebene Beispiel wollen wir wörtlich zitieren: „Verbraucht man zum Zurücktitrieren, z. B. bei Anwendung einer Brommenge, die 50 ccm Thiosulfat entspricht, 15 ccm Thiosulfat, so wird man für die eigentliche Bestimmung des Kresolgehaltes nur eine Bromid-Bromat-Menge zusetzen, die ca. 36 bis 38 ccm Thiosulfat entspricht, und kann dann sicher sein, daß man nicht mehr als 6 bis 8 ccm Thiosulfat zum Zurücktitrieren verwenden wird, was im Maximum nur dem vierten Teile des verbrauchten Broms entsprechen würde."

Wir haben nun versucht, diese für die Untersuchung des Kresolgemisches angegebene Vorprobe auf den vorliegenden Fall in der Weise anzuwenden, daß wir bei unbekanntem Phenol-Parakresol-Gemisch die Annahme machten, es bestehe das Gemisch nur aus Phenol und nun die diesem entsprechende Bromatmenge (3 Atome Brom für 1 Molekül) für den Vorversuch verwenden.

2. Die Menge des ad 1) angegebenen Gemisches beträgt 0,09777 g; bei der Annahme, daß nur Phenol vorliege, berechnet sich die Menge des für die Vorprobe anzuwendenden Bromats zu 62,08 ccm. Bei dem mit 62 ccm Kaliumbromat-Bromid-Lösung = 63,31 ccm Thiosulfat durchgeführten Versuch (wobei nach dem Zusatz von KJ-Lösung 10 Minuten vor der Titration gewartet wurde) wurden 18,1 ccm Thiosulfat zur Rücktitration benötigt; dem verbrauchten Brom würden demnach 45,2 ccm Thiosulfat entsprechen. Vermehrt man diese Menge nach dem obigen Beispiel, so würde sich eine Bromatmenge für die Durchführung der Methode, entsprechend einem Bromüberschuß von rund 21 bis 23% ergeben. Dies würde also in dem vorliegenden Fall annähernd dem günstigsten angewendeten Bromüberschuß von rund 25% wohl entsprechen. Dabei ist aber zu berücksichtigen, daß hier zufällig ein Gemisch mit stark überwiegendem Kresolgehalt vorliegt, weshalb bei dem mit großem Bromüberschuß durchgeführten Vorversuch eine die theoretische Menge stark

[1]) Vgl. Zeitschr. f. angew. Chem. 14, 164, 1901.

[2]) Bei der Vorprobe braucht, wie (a. a. O.) angegeben ist, keine 1stündige Einwirkung der KJ-Lösung zur Vervollständigung der Reaktion stattzufinden.

übersteigende Brommenge verbraucht wird[1]). Die Menge des verbrauchten Broms würde aber bei dem Vorversuch bei stark überwiegendem Phenolgehalt den theoretischen Bromverbrauch weit weniger übersteigen, einerseits weil das Phenol auch bei größerem Überschuß unter den gewählten Arbeitsbedingungen nicht mehr als 3 Atome Brom aufnimmt, und andererseits weil der Bromüberschuß bei dem Vorversuch infolge der Gegenwart der größeren Mengen Phenol bedeutend geringer wäre, also auch das vorhandene p-Kresol nicht viel mehr als 2 Atome Brom aufnehmen würde. Wenn man daher bei überwiegendem Phenolgehalt des Gemisches bei der Vorprobe in ähnlicher Weise verfahren würde, so würde dabei die in der angegebenen Weise berechnete, bei der Durchführung der Bestimmung anzuwendende Bromatmenge einem Bromüberschuß von weit unter 25% entsprechen und zwar würde diese Grenze um so mehr unterschritten werden, je relativ mehr Phenol das Gemisch enthält. In dem Maße könnte aber das Resultat (je nach dem Mischungsverhältnis) ungünstiger werden, da ja die Bromaufnahme des Phenols mit abnehmendem Bromüberschuß (nach den früher angegebenen Versuchen) abnimmt.

Wir haben nun eine Reihe von Versuchen durchgeführt, um den günstigsten Bromüberschuß von rund 25% über den theoretischen Bromverbrauch (bei der Aufnahme von 3 Brom für das Phenol, 2 Brom für das p-Kresol) mit Berücksichtigung des erwähnten Umstandes durch den Vorversuch feststellen zu können und gelangten hierbei schließlich zu folgendem Resultat. Bei Durchführung der Bromierung nach der von D. und C. angegebenen Arbeitsweise verhalten sich Phenol und p-Kresol hinsichtlich des Aussehens des bromierten Produktes nach erfolgter Titration des ausgeschiedenen Jods sehr verschieden. Das Tribromphenol ist ein rein weißer, grobflockiger Niederschlag, der zum großen Teil sich an der Oberfläche der Flüssigkeit ansammelt. Beim p-Kresol geht nach dem Zusatz von KJ das bromierte Produkt zum Teil in Lösung und es verbleibt in verhältnismäßig geringer Menge ein hellgelb gefärbter Niederschlag, der sich zum großen Teil rasch zu Boden setzt, zum geringeren Teil in der Flüssigkeit suspendiert bleibt[2]). Enthält das Phenol-Parakresol-Gemisch vorwiegend

---

[1]) Nach den von D. und C. seinerzeit durchgeführten Versuchen nimmt das p-Kresol bei großem Bromüberschuß bedeutend mehr als 2 Atome Brom auf.

[2]) Bei Anwendung eines zu großen Bromüberschusses und dadurch erfolgter zu weit gehender Bromierung, bemerkt man neben den gelb gefärbten auch dunkelbraun gefärbte Anteile, die manchmal zu größeren Klumpen vereinigt auftreten.

Phenol, oder Phenol und Kresol in annähernd gleicher Menge, so hat das bromierte Produkt nach der Titration das für Phenol charakteristische Aussehen; überwiegt das Kresol in geringer Menge, so ist neben dem, an der Oberfläche angesammelten, grobflockigen, weißen Niederschlag eine geringe Menge des gelb gefärbten, körnigen Niederschlags am Boden der Schüttelflasche zu bemerken. Ist schließlich das Kresol in stark überwiegender Menge vorhanden, so tritt der weiße, grobflockige Niederschlag des Phenols fast vollständig zurück und der größte Teil des Produktes befindet sich (so weit er nicht in Lösung ist) nach der Titration als schwerer, körniger, gelb gefärbter Niederschlag am Boden des Gefäßes[1]).

Wenn nun das Aussehen des Niederschlags nach der Titration die Gegenwart des Phenols in großer oder stark überwiegender Menge anzeigt, der Niederschlag also weiß und grobflockig erscheint und zum großen Teil sich an der Oberfläche befindet, so wird die bei dem Vorversuch verbrauchte Bromatmenge um rund 25% erhöht und diese Bromatmenge zu der eigentlichen Bestimmung verwendet. Ergibt sich bei Durchführung des Vorversuchs aus dem Aussehen des Niederschlags, daß derselbe in stark überwiegender Menge aus p-Kresol besteht, so fügt man der hierbei verbrauchten Bromatmenge rund $^1/_8$ derselben zu und erhält so die für die Bestimmung anzuwendende Bromatmenge. Aus den im Nachstehenden angeführten Beispielen wird die Richtigkeit dieser Arbeitsweise ohne weiteres ersichtlich.

---

[1]) Auf das verschiedene Aussehen des bromierten Produktes beim Phenol und Kresol hatte (wie auch in der Arbeit von D. und C. erwähnt ist) bereits C. E. Smith (Amer. Journ. of Pharm. 70, 369, 1898; Chem.-Zeitg. 22, Rep. 230, 1898) aufmerksam gemacht und darauf hingewiesen, daß man so leicht erkennen könne, ob die Probe vorwiegend Kresol oder Phenol enthalte. Er gibt auch an, daß man bei Anstellung von Kontrollversuchen mit Mischungen bekannter Mengen Phenol und Kresol annähernd ihre relativen Mengen in der zu prüfenden Probe (Carbolöl) bestimmen kann. Hierzu sei bemerkt, daß dieser an und für sich rohen Methode ein prinzipieller Fehler anhaftet, indem bei den „Kontrollversuchen" das Mischungsverhältnis der isomeren Kresole in der zu untersuchenden Probe nicht in Betracht gezogen werden kann. Nach D. und C. verhält sich aber das m-Kresol bei der Bromierung in anderer Weise als o- und p-Kresol.

Für die folgenden Versuche wurde eine frisch hergestellte Kaliumbromat-Bromid-Lösung verwendet, von der 50 ccm = 50,94 ccm Thiosulfatlösung.

3. Zunächst wurde die Vorprobe für ein, dem zuletzt untersuchten ähnlich zusammengesetztes Gemisch durchgeführt. Angewandt: Je 20 ccm einer Lösung, enthaltend 0,00914 g Phenol + 0,088166 g Kresol = 0,097306 g Phenolgemisch.

Berechnet man unter der Annahme, daß nur Phenol vorliege, die diesem entsprechende Bromatmenge, so ergibt sich dieselbe zu 61,7 ccm, entsprechend 62,9 ccm Thiosulfatlösung. Es wurden nun mit je 20 ccm der Lösung des Gemisches zwei Vorversuche mit 61,7 ccm Bromatlösung durchgeführt, wobei 10 Minuten nach dem Zusatz der KJ-Lösung titriert wurde.

Zur Rücktitration wurde im Mittel 19,67 ccm Thiosulfat benötigt; dem verbrauchten Brom entsprechen demnach 43,23 ccm Thiosulfat. Da der ungelöste Anteil des bromierten Produktes nach erfolgter Titration zum relativ größeren Teil als körniger, gelb gefärbter Niederschlag am Boden des Gefäßes sich ansammelte, so war Kresol in stark überwiegender Menge vorhanden; es mußte also $^1/_8$ der dem verbrauchten Brom entsprechenden Menge dazu addiert werden: $43{,}23 + \frac{1}{8} \times 43{,}23 = 43{,}23 + 5{,}40 = 48{,}63$ ccm Thiosulfat. Die dieser Menge an Thiosulfat entsprechende Bromatmenge muß nun zu der Bestimmung verwendet werden und das entspricht einem Bromüberschuß von 24,7%.

Der früher angegebene (II. C. d 1.) Versuch wurde mit 24,8% Bromüberschuß durchgeführt und ergab die dort mitgeteilten Resultate.

e) Es wurde ein Gemisch aus 100 ccm Phenollösung = 0,25137 g Phenol und 10 ccm Kresollösung = 0,05388 g p-Kresol hergestellt. Für jeden Versuch wurden 20 ccm der Mischung verwendet, entsprechend 0,045704 g Phenol und 0,009796 g Kresol.

Vorversuch. — Bei Annahme, daß nur Phenol vorhanden ist, entsprechen 0,05550 g des Gemisches (bei der Aufnahme von 3 Atomen Brom per Molekül) 35,2 ccm der Bromat-Bromid-Lösung = 35,9 ccm der Thiosulfatlösung. Der Vorversuch wurde also mit 20 ccm der Lösung des Gemisches und 35,2 ccm Bromatlösung in analoger Weise, wie beim vorhergehenden Versuch (d 3.) durchgeführt.

Zur Titration wurden 2,89 ccm Thiosulfat benötigt; dem verbrauchten Brom entsprechen demnach 35,9 — 2,89 = 33,01 ccm Thiosulfat. Da der weiß gefärbte, grobflockige Niederschlag nach der Titration

zum größten Teil an der Oberfläche der Flüssigkeit schwimmt, so ist vorwiegend Phenol vorhanden und es wird daher für die Durchführung der Bestimmung die bei dem Vorversuch ermittelte, dem Bromverbrauch entsprechende Thiosulfatmenge um 25% erhöht: 33,01 + 8,25 = 41,26 ccm Thiosulfat; diese entsprechen 40,5 ccm Bromat-Bromid-Lösung, die also für die Durchführung der Bestimmung anzuwenden sind. (Diese Menge an Bromatlösung entspricht nun einem Bromüberschuß von 24,2%.)

Eigentliche Bestimmung. — Mit der durch den Vorversuch ermittelten Bromatmenge (40,5 ccm) wurden nun mit je 20 ccm des Gemisches drei Versuche durchgeführt.

Zur Titration des ausgeschiedenen Jods wurden verbraucht: 8,18, 8,09, 8,23 ccm, das ist i. M. 8,17 ccm Thiosulfat; dem verbrauchten Brom entsprechen daher 41,26 − 8,17 = 33,09 ccm Thiosulfat. $b = 0{,}130335$; $a = 0{,}055500$.

	Gef. g	Angew. g	Fehler g	abs. Fehler %
Kresol:	0,010426	0,009796	+ 0,000630	+ 6,43
Phenol:	0,045074	0,045704	− 0,000630	− 1,38

Das Gemisch enthält: 17,65% Kresol und 82,35% Phenol,
gefunden: 18,78 „ „ „ 81,22 „ „
Der relative Fehler beträgt also ± 1,13%.

Dieser Versuch entspricht dem unter I. C. c angegebenen mit Natriumbromat-Bromid-Lösung. Wie man sieht, ist hier, bei Anwendung der aus $KBrO_3$ und KBr hergestellten Bromat-Bromid-Lösung und des Bromüberschusses von 24,2% (statt 30%) die Übereinstimmung eine bessere und daher noch günstiger im Vergleich zu dem analogen, dort auch angegebenen Versuch von Siegfried und Zimmermann (S. 387 ihrer Abhandlung, Versuch 7), bei dem die absoluten Fehler beim Kresol + 26,6%, beim Phenol − 4,2%, und der relative Fehler beim Kresol + 4,6% betrugen.

f) Schließlich wurde noch ein Gemisch untersucht, bei dem das Mischungsverhältnis von Phenol und Kresol ungefähr im Verhältnis von 1:1 steht. Mit diesem Versuch wurde gleichzeitig bezweckt, die von S. und Z. angeblich nach der Vorschrift von D. und C., tatsächlich aber mit Außerachtlassung der vorgeschriebenen Versuchsbedingungen, durchgeführten Versuche mit den Gemischen von Phenol und p-Kresol bei richtiger Arbeitsweise durchzuführen und die Resultate mit den von Siegfried und Zimmermann erhaltenen in Vergleich zu ziehen. Dementsprechend wurde für die Versuche das Gemisch III (B. und C.), (angegeben auf S. 373 der Abhandlung

von S. und Z.) angewendet, also für jeden Versuch 0,0380 g Phenol und 0,0410 g Kresol verwendet.

Vorversuch. — Bei Annahme, daß nur Phenol vorhanden sei, berechnet sich die erforderliche Bromatmenge zu 50,17 ccm. Dementsprechend wurden zwei Versuche mit 50 ccm Bromat = 50,94 ccm Thiosulfat durchgeführt.

Zur Rücktitration wurde 11,33, 11,17 ccm Thios. benötigt; dem verbrauchten Brom entsprechen demnach i. M. 39,69 ccm Thiosulfat. — Da der rein weiße, grobflockige Niederschlag nach erfolgter Titration zum weitaus größeren Teil auf der Oberfläche schwimmt, und zum geringeren Teil in der Flüssigkeit suspendiert und auf dem Boden des Gefäßes sich befindet, wird zur Ermittlung der für die Bestimmung erforderlichen Bromatmenge $^1/_4$ von der dem Bromverbrauch des Vorversuchs entsprechenden Thiosulfatmenge dazuaddiert: 39,69 + 9,92 = 49,61 ccm Thiosulfat. Diese entsprechen 48,7 ccm Kaliumbromat-Bromid-Lösung und einem Bromüberschuß von 24,1%.

Eigentliche Bestimmung. — Nun wurden drei Versuche mit dem Gemisch bei Anwendung von 48,7 ccm Bromatlösung durchgeführt.

Zur Rücktitration wurden verbraucht: 9,90, 9,72, 9,71 ccm, das ist i. M. 9,78 ccm Thiosulfat; dem verbrauchten Brom entsprechen 39,83 ccm Thiosulfat. $b = 0{,}156885$; $a = 0{,}0790$.

	Gef.	Angew.	Fehler	Absol. Fehler
	g	g	g	%
Kresol:	0,04151	0,0410	+ 0,00051	+ 1,24
Phenol:	0,03749	0,0380	— 0,00051	— 1,34

Das Gemisch enthält: 51,90% Kresol und 48,10% Phenol;
gefunden: 52,54% „ „ 47,46% „
Der relative Fehler beträgt demnach ± 0,64%.

Siegfried und Zimmermann fanden bei der Untersuchung dieses Gemisches:

	Versuch B	Absol. Fehler	Versuch C	Absol. Fehler
	g	%	g	%
Kresol:	0,0531	+ 29,5	0,0501	+ 22,2
Phenol:	0,0259	— 31,8	0,0289	— 23,9

Die Differenzen gegenüber den Sollwerten betragen also bei S. und Z. das 18- bzw. 14fache der von uns festgestellten Differenzen gegenüber den Sollwerten.

Wie wir schon in der Einleitung angeführt haben, geben S. und Z. nicht an, welche Bromatmenge sie bei diesem Versuch angewendet haben. Aus den diesbezüglichen Angaben bei ihren Versuchen I und III A, bei denen sie über 450% bzw. 80% Bromüberschuß (bezogen auf die Menge des verbrauchten Broms) verwendeten, darf man wohl annehmen, daß

sie auch bei den Versuchen III B und C einen ganz willkürlichen Bromüberschuß in Anwendung brachten, also diesbezüglich sowohl, als auch hinsichtlich der Konzentration der Salzsäure, die sie statt 18,6%ig 12,5%ig wählten, von der Vorschrift von D. und C. in einer solchen Weise abgewichen sind, daß die unrichtigen Resultate nicht weiter verwunderlich sein können[1]).

Zum Schluß sei uns noch gestattet, einige Punkte der Abhandlung von S. und Z., betreffend die Ausarbeitung ihrer Methode, in Besprechung zu ziehen. Das von ihnen vorgeschlagene Verfahren zur Bestimmung von Phenol neben p-Kresol beruht darauf, bei unbekanntem Gewicht des Gemisches von Phenol und p-Kresol, die beiden Komponenten aus zwei zu ermittelnden Bromwerten zu berechnen.

Der eine Wert (von ihnen mit b_2 bezeichnet) entspricht der Brommenge, die bei der Aufnahme von 2 Atomen Brom durch das p-Kresol und 3 Atomen Brom durch das Phenol resultiert, der zweite Wert (b_1) der Brommenge bei der Aufnahme von 3 Atomen Brom sowohl durch das p-Kresol als auch durch das Phenol. Aus diesen beiden Werten erfolgt die Berechnung der beiden Bestandteile in ähnlicher Weise, wie dies prinzipiell für die Untersuchung von Phenolgemischen von D. und C. angegeben worden ist. Die Ermittlung des ersten Bromwertes (b_2) stellt eine Modifikation der von D. und C. angegebenen Methode vor,

---

[1]) Wir haben auch noch einige Versuche durchgeführt, um uns direkt davon zu überzeugen, welchen Einfluß die Konzentration der Salzsäure (12,5%ig statt 18,5%ig) auf das Resultat haben kann, wollen aber von der gesamten Wiedergabe dieser Versuche absehen und nur kurz jene erwähnen, die wir zwecks Nachprüfung des Versuchs I (S. 372 der Abhandlung von S. und Z.) durchführten. Bei diesen Versuchen fanden sie nämlich, trotz der Nichteinhaltung der Vorschrift von D. und C., sowohl in bezug auf den Bromüberschuß (statt 20 bis 35% über 450% vom verbrauchten Brom) als auch der Salzsäurekonzentration, ein richtiges Resultat, indem die Differenz gegenüber dem theoretischen Wert nur $-1{,}45\%$ beträgt. Wir haben unter ganz gleichen, relativen Verhältnissen (wie S. und Z.) den Versuch zweimal wiederholt und dabei eine Differenz i. M. von $+6{,}53\%$ gegenüber dem theoretischen Werte festgestellt. Ferner haben wir zwei Versuche mit gleich großem Bromüberschuß, aber mit Verwendung der Salzsäure (1:1) durchgeführt, wobei der ermittelte Fehler i. M. $+9{,}17\%$ betrug. Nach dem in der Einleitung Gesagten waren diese Resultate vorauszusehen, und wir können nur nochmals wiederholen, daß das Ergebnis dieses einen Versuches von S. und Z., der die von D. und C. erhaltenen Resultate mit p-Kresol bestätigen soll, nach den Versuchsbedingungen schon, bestätigt durch unsere Nachprüfung, als Zufallswert anzusehen ist.

zu der sich S. und Z. wahrscheinlich veranlaßt fühlten, weil sie angeblich nach dieser Methode zu keinem befriedigenden Resultate gelangten.

Die von ihnen angeführten vier Versuche (der zweiten Versuchsreihe auf S. 377 ihrer Abhandlung) mit p-Kresol ergaben nach ihrer, der Bestimmung von b_2 zugrundeliegenden Arbeitsweise $+1{,}5\%$, $+2{,}4\%$, $+2{,}4\%$, $+5{,}4\%$, das ist i. M. $+2{,}9\%$ Fehler[1]).

Beim Vergleich dieser Übereinstimmung mit der von uns bei den Versuchen I Ba oder II Bb und c erzielten (von i. M. $+2{,}7\%$ bzw. $+1{,}7\%$ und $0{,}8\%$), ergibt sich zunächst kein wesentlicher Vorteil der von S. und Z. modifizierten Arbeitsweise gegenüber der von D. und C., auch nicht dann, wenn man das von S. und Z. bei ihrem Versuche mit p-Kresol angeblich nach der Vorschrift von D. und C. erhaltene Resultat — Fehler $-1{,}45\%$ — zum Vergleich heranziehen wollte. Nun hatten allerdings S. und Z. speziell mit Phenol bei angeblicher Einhaltung der Arbeitsweise von D. und C. keine befriedigenden

[1]) Die sich auf die Arbeit von S. und Z. in vorliegender Abhandlung beziehenden Angaben der prozentischen Fehler sind von uns aus den dort angeführten Versuchsergebnissen berechnet worden. — Hinsichtlich obiger Resultate (mit p-Kresol) sei erwähnt, daß nach A. Kossler und E. Penny (Zeitschr. f. physiol. Chem. 17, 130, 1893) der in wässeriger p-Kresollösung bei Zusatz von Bromat-Bromid-Lösung und Säure entstehende Niederschlag sich in KJ-Lösung (bei ihrer Arbeitsweise) fast vollständig auflöste. S. und Z. hatten festgestellt, daß bei der Bromierung des p-Kresols der entstehende, in KJ-Lösung unlösliche Körper ein Tribrom-, das in Lösung gehende Produkt ein Dibromkresol ist. Bei ihrer Arbeitsweise soll nun das bromierte Produkt, unter Übergang in Dibromparakresol, vollständig in Lösung gehen (vgl. S. 377 ihrer Abhandlung). Nach obigen Zahlen scheint aber der angestrebte Zweck nicht ganz erreicht worden zu sein, da sie ja bis zu $5{,}4\%$ mehr Kresol finden, daher dementsprechend mehr als 2 Atome Brom aufgenommen wurden, also doch neben dem Dibrom- auch das Tribromderivat entstanden sein dürfte. Wir möchten hier noch darauf hinweisen, daß schon F. Wagner in seiner Arbeit „Über die Einwirkung von Brom auf Parakresol" (Diss., Marburg 1899) darauf aufmerksam macht, daß die Einwirkung von Brom auf p-Kresol in wässeriger Lösung nicht glatt verläuft. Bei Einhaltung bestimmter Arbeitsbedingungen (wie z. B. bei unserer Arbeitsweise), kann man die Aufnahme von nur 2 Atomen Brom mit einer für den vorliegenden Zweck hinreichenden Annäherung an den theoretischen Wert begrenzen. Ein dem theoretischen genau entsprechendes Resultat läßt sich, wie man sieht, auch nicht unter den von S. und Z. angegebenen Versuchsbedingungen erzielen.

Resultate erhalten; sie hätten also naturgemäß ihre Arbeitsweise für die Bildung von Dibrom-Parakresol nun in der Richtung untersuchen müssen, ob unter diesen Bedingungen das Phenol quantitativ in das Tribromphenol übergeht. Dies wäre um so notwendiger gewesen, als doch S. und Z. angeblich festgestellt haben wollen, daß nach der Arbeitsweise von D. und C. wohl das p-Kresol quantitativ in das Dibrom-, nicht aber das Phenol quantitativ in das Tribromderivat übergeht. Merkwürdigerweise haben nun S. und Z. auch nicht einen einzigen Versuch mit Phenol nach ihrer Arbeitsweise durchgeführt, sondern sie nehmen stillschweigend an, daß nach ihrer (von der Koppeschaarschen abweichenden) Arbeitsweise das Tribromphenol quantitativ entstehen müsse. Auf ihre Versuche mit p-Kresol folgen in ihrer Abhandlung unmittelbar die mit den Mischungen, und zwar werden dort (auf S. 378 und 379) drei Versuchsreihen angegeben. Nach Anführung derselben bemerken S. und Z.: „Wie man sieht, sind die Resultate bei den verschiedensten Mischungsverhältnissen von Phenol und Kresol genau."

Wir wollen nun einige der angeführten Versuche durch Berechnung der prozentuellen absoluten Fehler auf ihre Genauigkeit prüfen:

Parakresol

	Gef. g	Ber. g	Absol. Fehler %
Versuch 3 der ersten Versuchsreihe	0,0169	0,0203	— 16,7
„ 5 „ „ „	0,0237	0,0203	+ 16,7
„ 1 „ dritten „	0,0346	0,0358	— 3,5

Phenol

	Gef. g	Ber. g	Absol. Fehler %
Versuch 3 der ersten Versuchsreihe	0,0409	0,0380	+ 7,6
„ 5 „ „ „	0,0350	0,0380	— 7,9
„ 1 „ dritten „	0,0049	0,0038	+ 29,0

Die relativen Fehler (bezogen auf das Phenolgemisch) betragen bei diesen Versuchen beim p-Kresol: — 5,8%, + 5,8%, — 3,0%; beim Phenol: + 5,0%, — 5,1%, + 2,8%.

Aus diesen von S. und Z. erhaltenen Versuchsresultaten ergibt sich also, daß die von ihnen ausgearbeitete Methode nach ihren eigenen Beleganalysen bis zu 29% absoluten Fehler (bezogen auf die vorhandene Menge des betreffenden Bestandteils

der Mischung) und bis zu 5,8 % relativen Fehler (bezogen auf das Phenolgemisch) ergab.

S. und Z. haben die prozentuelle Berechnung des Fehlers ihrer Methode wahrscheinlich nicht vorgenommen, jedenfalls aber in ihrer Arbeit nicht angeführt; vielleicht kommen sie aus diesem Grunde nach Mitteilung ihrer Versuchsergebnisse zu dem obigen Ausspruch: „Wie man sieht, sind die Resultate bei den verschiedensten Mischungsverhältnissen von Phenol und Kresol genau."

Hier muß noch bemerkt werden, daß bei den oben erwähnten drei Versuchsreihen nur der eine Bromwert (b_2, entsprechend einer Aufnahme von 3 Atomen Brom für das Phenol und 2 Atomen Brom für das p-Kresol) experimentell ermittelt, während der zweite Bromwert (b_1) aus den bekannten Mengen Phenol und Kresol berechnet wurde. Die angegebenen Fehler sind also hier ausschließlich auf die zur Ermittlung dieses Bromwerts (b_2) vorgeschlagene Arbeitsweise zurückzuführen[1]).

S. und Z. scheinen aber selbst von diesen als genau bezeichneten Resultaten nicht ganz befriedigt gewesen zu sein, denn sie fügen dem oben zitierten Satz hinzu: „Wie wir weiter unten zeigen werden, gelingt es durch einen Kunstgriff, einen übergroßen Überschuß an Bromat-Bromid-Lösung zu vermeiden und so die Genauigkeit der Methode zu sichern." Jetzt wird also plötzlich zum erstenmal bemerkt, daß der Überschuß an Bromat-Bromid-Lösung bei der Durchführung ihrer Methode nicht ganz gleichgültig ist. Aber bei der Nachprüfung der von D. und C. angegebenen Versuche wurde von ihnen, entgegen der ausdrücklichen Angabe derselben, die auch in der gegen die Abhandlung von Russig und Fortmann veröffentlichten Entgegnung des einen von uns klar und deutlich zum Ausdruck kommt, ein ganz willkürlicher Bromatüberschuß angewendet[2]). Die Anwendung dieses (Seite 384 ihrer Abhand-

[1]) Wir haben mit dem von S. und Z. ermittelten Bromwert ($b_2 = 0{,}1272$) für den oben zuletzt angegebenen Versuch die Menge des Phenols und Kresols nach unserer Formel berechnet und dabei für Phenol einen absoluten Fehler von + 24 %, für Kresol einen solchen von — 2,5 % erhalten. Das analog zusammengesetzte Gemisch ergab bei Verwendung des nach unserer Methode ermittelten Bromwertes (vgl. II C. d) einen absoluten Fehler von + 9,28 % für Phenol und von — 0,98 % für Kresol.

[2]) Wie schon früher erwähnt, hat der eine von uns in der gegen R. und F. gerichteten Abhandlung, wie S. und Z. jedenfalls auch übersehen haben dürften, ebenfalls einen „Kunstgriff" angeführt, mit Hilfe

lung näher beschriebenen) „Kunstgriffes" scheint übrigens den angestrebten Zweck nicht ganz erfüllt zu haben, wie man aus den (Seite 387 ihrer Abhandlung) angegebenen Versuchsergebnissen ersehen kann[1]).

Auf Seite 379 ff. ihrer Abhandlung stellen weiters S. und Z. die Bedingungen fest, unter denen Phenol und p-Kresol je 3 Atome Br aufnehmen, indem sie das von Keppler[2]) angegebene Verfahren modifizieren, um auf diese Weise den Bromwert b_1 zu ermitteln.

Hinsichtlich ihrer (S. 382) angegebenen Versuche darf vielleicht auf die Versuche 6, 7, 8 und 21 auf Seite 877 und 898 der Arbeit des einen von uns mit Cedivoda hingewiesen werden, wo u. a. bei Versuch 8 festgestellt wurde, daß bei genügendem Bromüberschuß und Einhaltung des von D. und C. ebenfalls modifizierten Kepplerschen Verfahrens durch 1 Molekül Phenol 3,956, nach Versuch 21 3,99 Atome Br aufgenommen wurden. Ferner wurde in dieser Arbeit auch festgestellt, daß unter den dort angegebenen Arbeitsbedingungen (vgl. die Versuche 3 und 15) durch 1 Molekül p-Kresol 3,005 bzw. 2,99 Atome Br aufgenommen wurden[3]). Von der Anwendung dieser von D. und C. modifizierten Arbeitsweise Kepplers für die Bestimmung von o- und p-Kresol neben Phenol wurde

---

dessen man bei der Bestimmung von m-Kresol in Kresolgemischen die Menge der anzuwendenden Bromat-Bromid-Lösung bemessen kann, um einen für die Genauigkeit der Methode schädlichen Bromüberschuß zu vermeiden. Die Kenntnis dieser unserer Angabe allein hätte S. und Z. schon die Wichtigkeit der Anwendung eines richtigen Bromüberschusses nicht übersehen lassen können.

[1]) Wir haben z. B. mit dem dort beim Versuch 7 angegebenen Wert für $b_2 = 0{,}2150$ die Menge des Kresols vergleichsweise nach unserer Formel berechnet und dabei ergab sich ein absol. Fehler von $+12{,}6\%$. Wir hatten bei der Untersuchung des analog zusammengesetzten Gemisches (vgl. II C e) nach unserer Methode einen absoluten Fehler von $+6{,}4\%$ beim Kresol erhalten. Daraus ergibt sich (vgl. auch Fußnote 1, S. 304), daß die Arbeitsweise von S. und Z. für die Ermittlung von b_2 in diesem Falle schon zu einer Verdopplung des absoluten Fehlers im Vergleich zu unserer Methode führt. Durch die Ermittlung von b_1 und Verwendung auch dieses Bromwerts für die Berechnung wird dann eine weitere Verdopplung des absoluten Fehlers (bei diesem Versuch) hervorgerufen ($+26{,}6\%$ absoluter Fehler beim Kresol; vgl. die näheren Angaben bei unserem Versuch II C e).

[2]) F. Keppler, Arch. f. Hygiene 18, 51, 1893.

[3]) Anschließend an den Versuch 8 wird dort bemerkt: „Wie man sieht, ist also zum Unterschied vom 3fach bromierten p-Kresol bei der Bildung des Tribromphenolbroms ein großer Überschuß an Br nötig."

damals, trotz der guten Übereinstimmung der hierbei erfolgten Bromaufnahme mit den theoretischen Werten, abgesehen, da die andere, für diesen Zweck angegebene Methode in ihrer Durchführung wesentlich einfacher ist.

Dagegen geben S. und Z. (S. 383 ihrer Abhandlung) an, daß man mittels ihres modifizierten Kepplerschen Verfahrens (zur Bestimung von b_1) direkt Phenol und p-Kresol bestimmen könne, wenn die Summe beider bekannt ist. Nach Erläuterung des Berechnungsmodus wird (S. 384) auch ein Beispiel für die Anwendung dieser Methode angegeben.

Berechnet man aus den angeführten Ergebnissen des hierfür angegebenen Versuchs die absoluten Fehler bei den ermittelten Bestandteilen des Phenolgemisches, so ergeben sich diese beim Phenol zu $+3{,}7\,\%$, beim Kresol zu $-5{,}7\,\%$. Von einem kleinen Rechenfehler abgesehen[1]), ist gegen das angeführte Beispiel der folgende Einwand zu machen: Auf S. 382 der Abhandlung von S. und Z. sind die (am Schluß der Seite) angegebenen vier Versuche nach der modifizierten Kepplerschen Arbeitsweise mit gleichen Phenol- und Kresolmengen und den genau gleichen Versuchsbedingungen durchgeführt worden. Für den Bromwert (b_1) wurden dabei vier verschiedene Resultate erhalten, die, gegenüber den berechneten, Differenzen von $+0{,}0010$ bis $0{,}0019$ g aufweisen. S. und Z. wählen nun für das eben erwähnte Beispiel jenen Bromwert, der die geringste Differenz gegenüber dem theoretischen Wert zeigt. Würde man, was wohl das Richtige wäre, den Mittelwert aus den vier Versuchen nehmen, so werden die absoluten Fehler mehr als doppelt so groß ($-6{,}5\,\%$ beim Kresol, $+4{,}4\,\%$ beim Phenol.

Daß tatsächlich die Anwendung dieser von S. und Z. modifizierten Kepplerschen Arbeitsweise für die Bestimmung von Phenol und p-Kresol bei bekanntem Gewicht des Gemisches zu sehr bedeutenden absoluten Fehlern führt, läßt sich ohne weiteres an der Hand anderer Versuchsergebnisse von S. und Z. nachweisen.

Nehmen wir z. B. den Versuch 5, der auf Seite 387 der von S. und Z. mitgeteilten Versuchsreihe und berechnen aus dem dort angegebenen Wert für $b_1 = 0{,}2838$ die Bestandteile des Gemisches und die Differenzen gegenüber den Sollwerten, so ergibt sich: beim Kresol ein absoluter Fehler von $+22{,}8\,\%$, beim Phenol von $-12{,}6\,\%$; der relative Fehler (bezogen auf das Phenolgemisch) beträgt dabei nicht weniger als $\pm 8{,}1\,\%$. Das analoge Gemisch, nach unserer Methode untersucht, er-

[1]) Statt $a = 0{,}0642$ soll es heißen 0,0643, entsprechend dem Versuch 8, S. 382, auf den dort verwiesen ist. Bei Durchführung der Rechnung mit diesem richtiggestellten Wert werden die absoluten Fehler kleiner ($-3{,}0\,\%$ beim Kresol, $+2{,}1\,\%$ beim Phenol).

gab[1]): gemäß Versuch II C b die absoluten Fehler von $-0{,}78\%$ beim Kresol und $+0{,}43\%$ beim Phenol; relat. Fehler $\pm 0{,}28\%$, und gemäß Versuch II C c die absoluten Fehler von $+0{,}25\%$ beim Kresol und $-0{,}13\%$ beim Phenol; relat. Fehler $\pm 0{,}08\%$.

Darnach ist wohl der Schluß gestattet, daß die von S. und Z. empfohlene Anwendung ihrer Modifikation der Kepplerschen Arbeitsweise für die Bestimmung von Phenol und Kresol bei bekanntem Gewicht des Gemisches, hinsichtlich der erzielten Resultate unserer Methode ganz bedeutend nachsteht, ganz abgesehen davon, daß sie in der Ausführung komplizierter ist.

Nach den von uns an der Hand der von S. und Z. angegebenen Versuchsdaten gemachten Feststellungen ist also sowohl die Ermittlung von b_2, als auch die von b_1 mit derartigen Fehlern behaftet, daß man schon daraus schließen kann, daß auch die Methode von S. und Z., die auf der Ermittlung dieser beiden Bromwerte beruht und zur Bestimmung von Phenol und Kresol in wässerigen Lösungen (vgl. S. 385ff. ihrer Abhandlung) dienen soll, zu unter Umständen nicht unbeträchtlichen, absoluten Fehlern führen muß. Dies ergab sich auch gelegentlich des Vergleichs einiger, bei Anwendung dieser Methode von S. und Z. erhaltenen Versuchsergebnissen mit den von uns bei Durchführung unserer Methode erhaltenen Resultaten (vgl. die schon mehrfach erwähnten Versuche 5 und 7 auf Seite 387 der Abhandlung von S. und Z. und unsere Versuche I C c und II C b, c und d)[2]).

---

[1]) Beim Vergleich mit diesen von uns erhaltenen Werten ist der Fehler nach der Arbeitsweise von S. und Z. rund 30 bzw. 100mal so groß. Die Zusammensetzung dieses Gemisches (0,0380 g Phenol und 0,0210 g Kresol) ist zufälligerweise eine ganz ähnliche als jene des von S. und Z. als Beispiel (vgl. oben) angegebenen Gemisches (0,0380 g Phenol und 0,0263 g Kresol), also nicht etwa der eine Bestandteil in besonders großem Überschuß vorhanden. Daß in einem solchen Falle die sich ergebenden Fehler naturgemäß ebenfalls nicht unbedeutend sind, ergibt der von S. und Z. in der gleichen Versuchsreihe angegebene Versuch 7, bei dem wieder die aus dem ermittelten Wert für b_1 berechneten Bestandteile des Gemisches die absoluten Fehler aufweisen: beim Kresol $-21{,}5\%$, beim Phenol $+4{,}5\%$. Das analoge Gemisch, nach unserer Methode untersucht, ergab (vgl. Versuch II C e) die absoluten Fehler: beim Kresol $+6{,}43\%$, beim Phenol $-1{,}38\%$.

[2]) Daß der große, absolute Fehler von $+26{,}6\%$ beim Versuch 7 von S. und Z. auf der Ungenauigkeit der ermittelten Bromwerte b_1 und

Wie wir bereits in der Einleitung hervorgehoben haben, handelt es sich vorläufig bei dieser von Siegfried und Zimmermann angegebenen Methode um die Bestimmung von Phenol neben p-Kresol in wässerigen Lösungen im allgemeinen. Über ihre Anwendung und Anwendbarkeit für die Bestimmung des Phenols und Kresols im menschlichen Harn sind bisher von S. und Z. noch keine Mitteilungen gemacht worden[1]). Ob und inwieweit die Methode von S. und Z. für diesen Zweck mit der nach ihren eigenen Beleganalysen erzielbaren Genauigkeit genügen würde, darüber wollen wir, da uns das Arbeitsgebiet zu ferne liegt, kein Urteil abgeben. Für den allgemeinen Fall der Bestimmung von Phenol neben p-Kresol haben wir wohl auf Grund unserer, mit den verschiedensten Mischungen durchgeführten Versuchen den Nachweis erbracht, daß die von Ditz und Cedivoda prinzipiell angegebene, für Gemische von Phenol und p-Kresol von uns näher geprüfte Methode weit bessere Resultate liefert, als das von S. und Z. modifizierte Kepplersche Verfahren (zur Bestimmung von b_1). Wir haben ferner festgestellt, daß unsere Methode auch bessere Resultate liefert, als das Verfahren von S. und Z. zur Bestimmung von b_1 (entsprechend unserer von ihnen modifizierten Methode) und schließlich auch dem kombinierten Verfahren, das für den speziellen Zweck der Bestimmung von Phenol und p-Kresol in wässerigen Lösungen empfohlen wird, soweit ein Vergleich hier möglich ist, weit überlegen ist[2]).

---

b_2 beruht, läßt sich natürlich auch rechnungsmäßig feststellen: Die der Berechnung der Methode zugrunde liegenden Gleichungen sind:

$$\frac{6\ \text{Br}}{\text{Phenol}}\,x + \frac{6\ \text{Br}}{\text{Kresol}}\,y = b_1$$

$$\frac{6\ \text{Br}}{\text{Phenol}}\,x + \frac{4\ \text{Br}}{\text{Kresol}}\,y = b_2.$$

Durch Subtraktion der beiden Gleichungen ergibt sich: $b_1 - b_2 = \frac{2\ \text{Br}}{\text{Kresol}}\,y$.

Aus dieser Gleichung kann man den theoretischen Wert für $b_1 - b_2$ berechnen, wenn man für y den betreffenden Wert (angewandte Menge Kresol = 0,0079 in dem speziellen Falle) einsetzt, zu: $b_1 - b_2 = 0{,}0116$. S. und Z. fanden aber: $b_1 - b_2 = 0{,}2299 - 0{,}2150 = 0{,}0149$. Der Fehler bei $b_1 - b_2$ (das nach obiger Formel zur Berechnung von y dient) beträgt demnach $+0{,}0033$ g = rund $+28\,\%$.

[1]) Vgl. Fußnote 3, S. 275.

[2]) Ob sich für die Bestimmung der beiden Phenole im Harn unsere Methode direkt oder vielleicht in Kombination mit der von C. Neuberg,

Die von S. und Z. hinsichtlich der von Ditz und Cedivoda durchgeführten Versuche, bzw. der darauf basierten Methode zur Untersuchung von Phenolgemischen geübte Kritik konnte schon mit Rücksicht auf den Umstand, daß die von S. und Z. angegebenen Versuche mit vollständiger Außerachtlassung der von D. und C. festgestellten Versuchsbedingungen durchgeführt wurden, als unberechtigt zurückgewiesen werden. Durch die von uns durchgeführten, im Vorstehenden angegebenen Versuche sind auch die seinerzeitigen diesbezüglichen Resultate von D. und C. in ihrer Gesamtheit bestätigt worden. Dementsprechend hält auch der eine von uns (D.) sämtliche in der mit Cedivoda veröffentlichten Abhandlung angeführten Versuchsergebnisse sowie die daraus gezogenen Schlußfolgerungen vollinhaltlich aufrecht.

Zeitschr. f. physiol. Chem. 27, 123, 1899, modifizierten Methode von A. Kossler und E. Penny, ebenda 17, 117, 1893, anwenden ließe, müßte erst durch entsprechende Versuche geprüft werden.

Über den Einfluß der Temperatur auf die Wirkung der Phosphatese.

Von

Hans Euler und Hjalmar Ohlsén.

(Aus dem biochemischen Laboratorium der Hochschule Stockholm.)

(Eingegangen am 28. Oktober 1911.)

Bei der alkoholischen Gärung der Zucker bildet sich, wie Iwanoff[1]) und Harden und Young[2]) gefunden haben, eine organische Phosphorsäureverbindung, die von A. v. Lebedew[3]) und Young[4]) eingehend untersucht und als Kohlenhydratphosphorsäureester erkannt wurde.

Gegenüber Iwanoff[5]) haben Harden und Young[6]) geltend gemacht, daß die Bildung des Esters nicht durch ein eigenes Enzym, sondern durch die Zymase geschieht, während letztere Forscher für die Esterhydrolyse ein eigenes Enzym, die Hexosenphosphatase, annehmen.

Aus Versuchen, die der eine von uns mit Herrn S. Kullberg[7]) ausgeführt hat, sowie aus denjenigen von Iwanoff schien uns hervorzugehen, daß die Hefe ein von der Zymase abtrennbares, synthetisches Enzym enthält, für das die Bezeichnung Phosphatese[8]) vorgeschlagen wurde.

[1]) Travaux de la Soc. des Natur. de St. Petersburg 34, 1905 (zit. nach Young).

[2]) Proc. Roy. Soc. 77 (B), 405, 1906.

[3]) Diese Zeitschr. 28, 213, 1910 und 36, 248, 1911; Compt. rend. de l'Acad. d. Sc. 153, 136, 1911.

[4]) Proc. Chem. Soc. 23, 65, 1907; Proc. Roy. Soc. 81, 528, 1909; diese Zeitschr. 32, 177, 1911.

[5]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 50, 280, 1907 und Centralbl. f. Bakt. (2), 24, 1, 1909.

[6]) Centralbl. f. Bakt. (2), 26, 178, 1910.

[7]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 74, 15, 1911.

[8]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 74, 13, 1911.

Wir werden später auf unsere Versuche, die Enzyme der alkoholischen Gärung zu trennen, näher eingehen, und wollen hier nur auf folgende Tatsachen hinweisen.

Vergärt man Glucose durch Hefepreßsaft in Gegenwart von Phosphaten, so werden diese in kurzer Zeit organisch gebunden. Das gleiche tritt ein, wenn man mit Extrakt von Münchner Hefe (wie sie z. B. von Schroder geliefert wird) arbeitet, sei es, daß dieselbe bei 40° getrocknet wird oder nach v. Lebedeff bei Zimmertemperatur; es gehen, wie in diesen Fällen Harden und Young beim Arbeiten mit Preßsaft gefunden haben, Gärung und Phosphatbildung hierbei nebeneinander her.

Wählt man aber eine andere Heferasse mit weniger hoher Vergärungskraft, trocknet dieselbe bei 40° im Vakuum und extrahiert die Trockenhefe in der üblichen Weise, so tritt mit Glucose keine Phosphatbindung ein. Die von uns am häufigsten angewandte Hefe H der St. Eriksbrauerei in Stockholm lieferte z. B. folgendes Resultat (Versuch 1a).

Wird dagegen die Glucose zuvor in Abwesenheit von lebender Hefe teilweise vergoren, so tritt nun die organische Bindung von Phosphat ein (Versuch 1b). Während dieser Zeit tritt keine Kohlensäure auf, der Verbrauch des Phosphates kann also unabhängig von der Gärung erfolgen.

Versuch 1a.

Zusammensetzung der Mischung	Minuten	$Mg_2P_2O_7$ in 10 ccm g
25 ccm Hefenextrakt . . .	0	0,0398
20 ccm 20%ige Glucoselösung	150	0,0394
10 ccm 5%iges Na_2HPO_4 . .	250	0,0394

Versuch 1b.

Zusammensetzung der Mischung	Minuten	$Mg_2P_2O_7$ in 10 ccm g
25 ccm Hefenextrakt . . .	0	0,0398
20 ccm 20%ige angegorene Glucoselösung	50	0,0210
10 ccm 5%iges Na_2HPO_4 . .	150	0,000

Wäre die Bildung der Phosphorsäureester ein enzymatischer Prozeß, der von der Gärung untrennbar wäre, so müßte

1. mit der Esterbildung eine Kohlensäureentwicklung verbunden sein.

2. Könnte nicht ein Enzymextrakt hergestellt werden, der die Fähigkeit, angegorene Zuckerlösungen zu verestern, besitzt, dagegen die Fähigkeit, reine Glucoselösungen zu verestern, entbehrt.

Mit anderen Worten: Die Fähigkeit, Phosphate und Kohlenhydrat enzymatisch zu Phosphorsäureester zu synthetisieren, ist trennbar einerseits von der Fähigkeit, Kohlensäure und Alkohol zu bilden, andererseits von der Fähigkeit, Glucose, Fructose, Mannose und Galaktose in denjenigen Körper überzuführen, der der Veresterung unterliegt. Oder kürzer:

Die Phosphatese ist von den Enzymen, die die Hexosen angreifen — sie könnten passend als Glucase, Fructase, Mannase und Galaktase bezeichnet werden[1]) — und von der Zymase im engeren Sinne abtrennbar.

Der Extrakt getrockneter Hefe, der die Phosphatese enthält, wird nun in seiner Wirksamkeit durch Erwärmen in auffallender Weise verändert; die diesbezüglichen Beobachtungen bilden den Inhalt der vorliegenden Mitteilung.

Die meisten Enzyme können in wässeriger Lösung bei geeigneter Konzentration der H'- und OH'-Ionen mehrere Stunden auf 40 bis 50° erwärmt werden, ohne daß eine erhebliche Schwächung der enzymatischen Wirksamkeit eintritt. Erst über 60° macht sich der Zerfall der Enzyme stark geltend, und da die Reaktionen, die diesen Zerfall herbeiführen, einen außerordentlich großen Temperaturkoeffizienten besitzen, so wird die Mehrzahl der Enzyme im Temperaturintervall 60° bis 70° schnell inaktiviert. Als Beispiel seien die Zerfallskonstanten der Invertase nach Messungen von Beth af Ugglas und S. Kullberg angeführt:

	$k \cdot 10^3$
60°	40
62°	78
65°	198

Bei einer Temperaturerhöhung um 2° steigt also die Zerfallsgeschwindigkeit auf das Doppelte.

Bei der Phosphatese der Hefe haben die Messungen folgende Resultate ergeben:

---

[1]) Vgl. hierzu Slator, Journ. Chem. Soc. 93, 217, 1908.

Bei allen Versuchen wurden 25 ccm Extrakt getrockneter Hefe mit 20 ccm vorbehandelter, d. h. angegorener Zuckerlösung und mit 10 ccm 5- oder 10%iger Natriumphosphatlösung gemischt. Unmittelbar nach dem Mischen und später nach geeigneten Zeitintervallen wurde die Reaktion unterbrochen, indem zu 10 ccm der Mischung 15 ccm Ammoniaklösung gegeben wurden. Die freie Phosphorsäure wurde gefällt und als Magnesiumpyrophosphat gewogen.

Die Zuckerlösung war stets 20%ig (Rohrzucker oder Glucose) und wurde bei den meisten Versuchen mittels lebender Hefe so weit vergoren, daß etwa $^1/_{10}$ der theoretisch möglichen Kohlensäure entwickelt wurde.

Die Hefe wurde stets im Vakuum getrocknet, entweder bei 40° oder nach v. Lebedew bei Zimmertemperatur.

Die Messungen haben folgende Resultate ergeben:

Versuch 2.

25 ccm Extrakt aus Trockenhefe L. + 20 ccm vorbeh. Rohrzuckerlösung + 10 ccm 5% Na_2HPO_4.

a) Extrakt nicht erhitzt		b) Extrakt 30 Min. auf 40° erhitzt		c) Extrakt 30 Min. auf 50° erhitzt	
1	2	3	4	5	6
Min.	$Mg_2P_2O_7$ g	Min.	$Mg_2P_2O_7$ g	Min.	MgP_2O_7 g
0	0,0487	0	0,0489	0	0,0517
108	0,0451	110	0,0128	105	0,0515
163	0,0431	165	0,0000	160	0,0519

Die Zahlen der Spalten 2, 4 und 6 beziehen sich auf die Menge $Mg_2P_2O_7$, die aus 10 ccm der Mischung gewonnen wurden.

Nehmen wir als Maß der Reaktionsgeschwindigkeiten die Zeiten, die für den Ablauf von $^1/_{10}$ der Reaktion erforderlich sind, so erhalten wir:

	Reaktionszeit
Nicht erhitzter Saft . .	150 Min.
Auf 40° „ „ . .	15 „
„ 50° „ „ . .	∞ „

Versuch 3.

Mischung wie in Versuch 1.

Extrakt nicht erhitzt		30 Min. auf 35°		30 Min. auf 40°		30 Min. auf 45°	
Min.	$Mg_2P_2O_7$ g	Min.	$Mg_2P_2O_7$ g	Min.	$Mg_2P_2O_7$ g	Min.	$Mg_2P_2O_7$ g
0	0,0518	0	0,0519	0	0,0522	0	0,0535
50	0,0480	47	0,0475	40	0,0441	42	0,0520
119	0,0475	115	0,0	113	0,0216	111	0,0482
		292	0,0201	290	0,0000	287	0,0332

Stellt man wieder die für $^1/_{10}$ der Reaktion erforderlichen Reaktionszeiten zusammen, so ergibt sich:

Nicht erhitzter Saft . .	65 Min.
Auf 35° erhitzter Saft .	48 „
„ 40° „ „ .	36 „
„ 45° „ „ .	111 „

In beiden Versuchen wurde der Saft durch Erhitzen auf 40° sehr stark aktiviert. Die gleiche Erscheinung zeigte sich, als wir den Temperaturkoeffizienten der Phosphoresterbildung bestimmten.

Versuch 4.

Mischung wie in Versuch 2 und 3.

A. Nicht erhitzter Extrakt.

Versuchstemperatur 17,5°.		Versuchstemperatur 30°.	
Min.	$Mg_2P_2O_7$ g	Min.	$Mg_2P_2O_7$ g
0	0,0494	0	0,0504
67	0,0358	50	0,0309
124	0,0256	101	0,0124
261	0,0128	231	0,0000

B. 30 Min. auf 40° erhitzter Saft.

Versuchstemperatur 17,5°.		Versuchstemperatur 30°.	
Min.	$Mg_2P_2O_7$ g	Min.	$Mg_2P_2O_7$ g
0	0,0497	0	0,0512
73	0,0315	60	0,0239
130	0,0140	110	0,0000
257	0,0000	243	0,0000

Wir vergleichen die für die halbe Reaktion erforderlichen Reaktionszeiten.

Temperatur	Erhitzter Saft	Nicht erhitzter Saft
17,5	85	124
30,0	50	62

Der Temperaturkoeffizient ist in beiden Fällen auffallend klein, er ergibt sich aus den angegebenen Zahlen zu 1,4 bzw. 1,5 für 10° Temperaturerhöhung.

Der Einfluß der Erhitzung ist hier geringer als in den beiden früheren Versuchen; dies liegt daran, daß die zu diesem Versuch verwendete Hefe schon beim Trocknen einer höheren Temperatur ausgesetzt war.

Noch geringer ist natürlich der Einfluß des Erhitzens, wenn die Hefe bei 40° getrocknet wurde. Dies zeigen die beiden folgenden Versuche:

Versuch 5.

Nicht erhitzter Extrakt.		Erhitzter Extrakt.	
Min.	$Mg_2P_2O_7$ g	Min.	$Mg_2P_2O_7$ g
0	0,0485	0	0,0485
134	0,0173	110	0,0204
200	0,0080	176	0,0030
252	0,0000	228	0,0000

Die für die halbe Versuchszeit erforderliche Reaktion beträgt hier 100 bzw. 85.

Bei allen Versuchen mit erhitztem Saft ist übrigens der zeitliche Verlauf der Phosphorsäurebindung sehr auffallend. Aus den Tabellen des Versuchs 4 z. B. ersieht man, daß dx/dt gegen Ende der Reaktion nicht abnimmt, auch wenn der größte Teil des freien Phosphates schon verschwunden ist. Da aber eine solche Abnahme dem Massenwirkungsgesetz zufolge notwendig eintritt, so muß man annehmen, daß dieselbe durch den zunehmenden Einfluß eines Katalysators (oder den verschwindenden Einfluß eines Paralysators) kompensiert wird, sofern nicht irgendwie die Menge des veresterungsfähigen Kohlenhydrates während der Reaktion steigt.

Die durch das Erwärmen des Saftes eintretende Aktivierung haben wir zunächst so zu deuten versucht, daß eine reaktionshindernde, enzymatische oder sonstige thermolabile Substanz bei 40° inaktiviert wird, so daß der positive Katalysator zur Wirkung kommt. In diesem Fall war zu erwarten, daß Zusatz von nicht erhitztem Saft zu erhitztem die Reaktion verzögert. Der Versuch hat gezeigt, daß dies nicht der Fall ist. Im Gegenteil wird die Wirkung des erhitzten Extraktes beschleunigt.

Versuch 6.

25 ccm Extrakt, erhitzt (40°),
20 „ Wasser,
20 „ angegorene Glucose,
10 „ 5%

Min.	$Mg_2P_2O_7$ g
0	0,0626
50	0,0575
85	0,0539
150	0,0450

25 ccm Extrakt, erhitzt (40°),
20 „ „ nicht erhitzt,
20 „ angegorene Glucose,
10 „ 5%

Min.	$Mg_2P_2O_7$ g
0	0,0626
50	0,0248
85	0,0000
150	0,0000

Der folgende Versuch lieferte ein analoges Resultat.

Versuch 7.

10 ccm 20%ige angegorene Glucoselösung, 10 ccm 5%ige Na_2HPO_4-Lösung +

25 ccm Extrakt, nicht erhitzt, 20 ccm Wasser.		25 ccm Extrakt, erhitzt (40°), 20 ccm Extrakt, nicht erhitzt.		25 ccm Extrakt, erhitzt, 20 ccm Wasser.	
Min.	$Mg_2P_2O_7$ g	Min.	$Mg_2P_2O_7$ g	Min.	$Mg_2P_2O_7$ g
0	0,0620	0	0,0620	0	0,062
84	0,0586	77	0,0407	72	0,032
152	0,0482	150	0,0000	140	0,015

Die hier mitgeteilten Ergebnisse können wir folgendermaßen zusammenfassen:

1. Der wässerige Extrakt aus Hefe, die bei Temperaturen unter 50° getrocknet ist, bewirkt enzymatisch die Bindung der Phosphorsäure an ein Kohlenhydrat, das vorher aus den gärungs-

fähigen Hexosen entsteht. Das dabei wirksame Enzym ist von anderen Bestandteilen der Zymase abtrennbar.

2. Die synthetische Wirkung des Extraktes wird durch Erwärmen auf Temperaturen zwischen 30° und 40° in hohem Grade verstärkt.

Die Erscheinung, daß Erwärmung eines enzymhaltigen Extraktes die Enzymwirkung verstärkt, ist, soviel wir wissen, ohne Analogie. Sie erinnert einerseits an die Reaktivierungen unwirksam gewordener Enzyme durch gekochte Enzymsäfte (Reaktivierung der Zymase nach Harden und Young), andererseits an die Bildung eines Enzyms aus Zymogen durch Erwärmen.

Wir möchten uns das Studium derselben bis auf weiteres vorbehalten.

Beiträge zur Physiologie und Pathologie des Kohlenhydratstoffwechsels[1]).

Von

K. Reicher und E. H. Stein.

(Aus der II. med. Klinik der Universität Berlin.)

(Eingegangen am 27. Oktober 1911.)

Mit 2 Figuren im Text.

I. Teil.

Methodisches.

Bei den von uns in Angriff genommenen Untersuchungen, die zunächst die Veränderungen der mit der Nahrung eingeführten Kohlenhydrate, ihre Verteilung in den verschiedenen Organen und Flüssigkeiten, den zeitlichen Ablauf ihrer Umsetzungen, kurz den intermediären Kohlenhydratstoffwechsel unter normalen und willkürlich oder pathologisch veränderten Bedingungen zum Gegenstande haben, machte sich von vornherein die Unzulänglichkeit der bisher geübten Methoden zur Bestimmung der Kohlenhydrate geltend. Für die Bestimmung der Gesamt-Kohlenhydrate existiert überhaupt kein direktes Verfahren, und auch die Methoden zur Bestimmung des Traubenzuckers versagen, soweit es sich bei diesem um die Bestimmung von wenigen Milligrammen und um höchst verdünnte Lösungen handelt.

Die in der Nahrungsmittelanalyse geübte Bestimmung — richtiger Berechnung — der „stickstofffreien Extraktivstoffe" (organische Substanz minus Eiweiß, minus Fett, minus Rohfaser), die ein Maß der in Wasser oder den Verdauungssäften löslichen Kohlenhydrate darstellen soll, kommt für unsere Zwecke ebensowenig in Betracht, wie die Bestimmung der

[1]) Die Veröffentlichung dieser im April 1910 abgeschlossenen Arbeit erfolgt aus äußeren Gründen erst heute.

Gesamt-Kohlenhydrate als reduzierender Zucker in der durch Behandeln mit Säure hydrolysierten Substanz.

Da die meisten der von uns in Aussicht genommenen Untersuchungen sich auf Blut und Serum, also höchst verdünnte Kohlenhydratlösungen, von denen im allgemeinen nur wenige Kubikzentimeter zur Verfügung stehen, erstrecken, so fallen überhaupt alle Methoden fort, die ein größeres, d. h. einige Milligramm übersteigendes Quantum an Ausgangsmaterial erfordern; dies bedeutet einen Verzicht auf jede Art gravimetrischer Analyse, legt es dagegen nahe, an eine Bestimmung auf colorimetrischem Wege zu denken. Eine Grundlage hierfür bietet die allen Kohlenhydraten gemeinsame sog. Furfurolreaktion von Molisch und v. Udránszky, die seit langem als qualitative Reaktion bekannt ist, zu quantitativen Bestimmungen sich jedoch bisher in befriedigender Weise nicht hat verwerten lassen.

Die von Molisch[1]) beschriebene (übrigens schon Döbereiner bekannte) Reaktion besteht in einer beim Zusammenbringen von Zucker, Schwefelsäure und α-Naphthol auftretenden Rotfärbung. An Stelle von α-Naphthol kann Thymol verwendet werden, das eine himbeerfarbene, bei größerer Verdünnung in orange bis gelb übergehende Färbung erzeugt.

v. Udránszky[2]) führt die Färbung auf die Bildung von Furfurol zurück, das mit α-Naphthol einen roten Farbstoff bilde. Zu dem gleichen Ergebnis kommen Emmet[3]) und Mylius[4]). Mylius, und auf dessen Anregung v. Udránszky, untersuchten eine große Reihe von Substanzen auf ihre Färbbarkeit mit Furfurol, letzterer bestimmte auch das Spektrum der gebildeten Farbe, sowie die Empfindlichkeit der Reaktion, wobei sich ergab, daß noch 0,0000026 g Furfurol durch α-Naphthol nachzuweisen sind. Die gewonnenen Erfahrungen verwertete v. Udránszky zu einer Methode des Nachweises und der annähernd quantitativen Bestimmung von Kohlenhydraten im Urin. Die Ausführung geschieht folgendermaßen: 1 Tropfen des 10fach verdünnten Harns wird mit 2 Tropfen alkoholischer α-Naphthollösung versetzt und mit $^1/_4$ ccm konz. H_2SO_4 unterschichtet. Tritt (über einem Saum) ein violetter Farbenring auf, so enthält der Urin mehr wie 0,5% Kohlenhydrate, ist also (nach v. U.) diabetisch.

Roos (Zeitschr. f. phys. Chem. 15, 513) bildete die Probe als Grenzreaktion aus, d. h. er verdünnte den zu prüfenden Harn bis zu

[1]) Monatsh. f. Chem. 7, 198, 1887.
[2]) Zeitschr. f. phys. Chem. 12, 355, 377.
[3]) Journ. f. prakt. Chem. 12, 120.
[4]) Zeitschr. f. phys. Chem. 11, 492.

der Grenze, bei der die Färbung nicht mehr auftritt, und ermittelt aus dem erforderlichen Verdünnungsgrad die ursprüngliche Konzentration an Zucker.

Des weiteren beschäftigt sich Luther[1]) ausführlich mit der Reaktion, ohne wesentlich Neues zu bringen. Mit Nachdruck weist er auf die Notwendigkeit hin, nur absolut reine Reagenzien zur Anstellung der Probe zu verwenden. Treupel[2]), Posner und Epstein[3]) bilden die v. Udránszkysche Methode zur Anstellung einer „quantitativen Probe" weiter aus, benutzen jedoch zum Vergleich anstatt der schwer abzuschätzenden Intensität des violetten Farbenringes die Farbe der durchgemischten Gesamtlösung, bleiben aber im übrigen bei dem umständlichen Verfahren, Dextroselösungen von abgestufter Konzentration zum Vergleich heranzuziehen. Später unterzog E. Salkowski[4]) die bis dahin gebräuchlichen Verfahren der Kohlenhydratbestimmung einer kritischen Besprechung und kommt zu dem Schluß, daß sie zu qualitativem Nachweis verwendbar, zu quantitativen Bestimmungen jedoch nicht zu empfehlen sind. Neuberg[5]) stellte fest, daß die fragliche Färbung von allen bisher darauf untersuchten Kohlenhydraten gegeben wird. Er bezweifelte, daß ihr Wesen in einer Bildung von Furfurol bestehe und brachte die Probe zuerst mit der intermediären Bildung von Oxymethylfurfurol in Beziehung. (Bezüglich der Substanzen, die die α-Naphtholreaktion geben, s. Tabelle daselbst.) Neuerdings wiesen Alberda van Ekenstein und Blanksma[6]) nach, daß ganz allgemein das Oxymethylfurfurol als Ursache dieser Kohlenhydratreaktion anzusehen ist. Die Empfindlichkeit geben sie zu 0,001 mg an.

Für die Verwendung der Reaktion zu quantitativ-colorimetrischen Bestimmungen kommt nun der ihr zugrunde liegende Chemismus erst in zweiter Linie in Betracht. Die Bedingungen, die für den vorliegenden Zweck erfüllt sein müssen, sind vielmehr neben hochgradiger Empfindlichkeit folgende: Spezifizität, Proportionalität gegenüber der Menge der zu bestimmenden Substanz, sowie Unabhängigkeit der Intensität und Nuance der Färbung von kleinen Schwankungen des „Milieus", worunter im vorliegenden Falle Temperatur und Quantität der beteiligten Reagenzien verstanden seien, eine Bedingung, die sich als „Reproduzierbarkeit" bezeichnen läßt. Eine weitere selbstver-

[1]) Inaug.-Diss. Freiburg 1890: Über das Vorkommen von Kohlenhydraten im menschlichen Harn. Derselbe, Sonderabdruck, Berlin 1899.

[2]) Zeitschr. f. phys. Chem. 16. 47.

[3]) Studium z. Diabetes. Berl. klin. Wochenschr. 1891, Nr. 8.

[4]) Zeitschr. f. phys. Chem. 17, 255.

[5]) Zeitschr. f. phys. Chem. 31, 564, 1900; ferner Neuberg, Der Harn. Handbuch Berlin 1911, 333 bis 335.

[6]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 43, 13, 1910.

ständliche Forderung ist die Verläßlichkeit der colorimetrischen Apparatur.

Die Empfindlichkeit der Reaktion ist, nach dem früher Gesagten und den später anzuführenden Kontrollbestimmungen eine für alle Fälle ausreichende. Was die nächste Bedingung, die Spezifizität betrifft, so war u. a. durch Neuberg nachgewiesen, daß alle Kohlenhydrate die Reaktion geben. Eigene spektrophotometrische Versuche haben erwiesen, daß die normalerweise in den Körperflüssigkeiten vertretenen Kohlenhydrate inkl. Pentosen und Glucuronsäure die Reaktion in nahezu gleicher Farbennuance geben. Es bleibt die Erörterung der Frage übrig, ob eine Proportionalität zwischen den Mengen vorhandener Kohlenhydrate und Färbungsintensität besteht und welche Einwirkung geringe Änderungen des Milieus ausüben. Im Zusammenhang hiermit steht die Ermittlung der für das Zustandekommen der Reaktion günstigsten Bedingungen. Im Anschluß daran soll die colorimetrische Apparatur und die praktische Ausführung der Methode erörtert werden.

Orientierende Vorversuche mit titrierten Traubenzuckerlösungen hatten gezeigt, daß die Intensität und Nuance der Färbung außer von der Menge des vorhandenen Kohlenhydrats von verschiedenen Umständen abhängig ist. Dazu gehört die Menge der Schwefelsäure, die Art der Ausführung der Reaktion (ob die Schwefelsäure zur Flüssigkeit zugesetzt wird oder umgekehrt, ob man α-Naphthol in alkoholischer Lösung oder in Substanz hinzufügt u. dgl.) und schließlich die Reaktionstemperatur. Es würde zu weit führen, des näheren auf die zahlreichen Einzeluntersuchungen einzugehen, die zum Zwecke hatten, die Bedingungen festzustellen, unter denen konstante, d. h. der Konzentration der Kohlenhydratlösung und nur dieser proportionale Resultate zu erwarten waren; systematische Variationen der Versuchsbedingungen haben schließlich folgendes ergeben:

Menge des erforderlichen α-Naphthols. Bei einer Höchstmenge von 0,001 g Kohlenhydrat[1]) nahm die Intensität der Färbung noch zu, wenn die Menge des zugesetzten α-Naphthols von 20 auf 30 mg anstieg, bei weiterer Erhöhung dieser

[1]) Wie aus den späteren Angaben hervorgeht, ist die bei Blutuntersuchungen zur Bestimmung gelangende Menge an Kohlenhydrat, da 0,2 ccm Blut verwandt werden, stets geringer als 1 mg.

Menge blieb sie konstant. Bei Zusatz von mehr als 60 mg wurde die bis dahin rein rot-violette Farbe leicht gelbstichig.

Menge der Schwefelsäure. Diese kann nach unseren Erfahrungen in ziemlich weiten Grenzen variiert werden, wofern sie das Volumen der kohlenhydrathaltigen Flüssigkeit um mindestens das 3fache übersteigt; sie muß ein spez. Gewicht von 1,84 besitzen. Es ist vorteilhaft, bei allen Versuchen dieselben Mengen Schwefelsäure und Flüssigkeit zu verwenden — hauptsächlich im Hinblick auf die beim Vermischen beider entstehende Reaktionstemperatur, die von wesentlichem Einfluß ist (s. unten). Wir haben uns dafür entschieden, stets 10 ccm Schwefelsäure mit 2 ccm Flüssigkeit zu überschichten.

Temperatur. Unter sonst gleichen Bedingungen erhielten wir konstante Resultate, wenn die Reaktionstemperatur zwischen 74 und 78° lag und 3 bis 4 Minuten innegehalten wurde. Bei längerem Erhitzen wurde die Flüssigkeit mißfarbig; wurde die genannte Temperatur nicht erreicht, so entwickelte sich die Färbung nicht bis zur vollen Intensität. Es muß von Anfang an eine der genannten möglichst nahekommende Temperatur erreicht werden, nachträgliches Erhitzen des während der Reaktion abgekühlten Flüssigkeitsgemisches führt nicht zum Ziel.

Schließlich stellten wir fest, daß zur Erzielung gleichmäßiger und reiner Färbungen die Verwendung alkoholischer Naphthollösung ebenso unzulässig ist, wie die nachträgliche Verdünnung des gefärbten Gemisches mit Wasser. Diese Verdünnung darf vielmehr, wenn eine Änderung des Farbentones vermieden werden soll, nur durch konz. Schwefelsäure erfolgen.

Anfänglich gingen wir in folgender Weise vor: In ein graduiertes Reagensglas von 20 ccm Inhalt werden 8 ccm konz. Schwefelsäure eingefüllt, aus einer Bürette 2 ccm einer Lösung von 20 g α-Naphthol in 1 l Schwefelsäure zugefügt[1]), darauf wird vorsichtig aus einer Pipette mit 2 ccm der zu untersuchenden wässerigen Flüssigkeit überschichtet. Nunmehr wird durch langsames Neigen und Schwenken eine allmähliche Mischung der Flüssigkeitsschichten bewirkt. Durch kurzes

[1]) Das Schwefelsäuregemisch zeigt eine leichte Gelbfärbung, die indes auf die colorimetrische Bestimmung ohne Einfluß ist, da der gelbe Farbenton bei allen zu untersuchenden Proben, inkl. der Vergleichs-(Test-)Lösung, von gleicher Stärke ist.

Unterhalten unter fließendes Wasser wird etwas abgekühlt, dann kommt das Röhrchen auf 3 Minuten in ein Wasserbad von 75 bis 78°. Nach vollständiger Abkühlung wird mit konz. Schwefelsäure auf 25 ccm aufgefüllt. Damit ist die Probe zur colorimetrischen Bestimmung gegen eine in gleicher Weise behandelte Test-Traubenzuckerlösung fertig.

Dieses im Beginn unserer Untersuchungen angewendete Verfahren wurde später, und zwar zum Vorteil der Genauigkeit, noch weiter vereinfacht. Es hatte sich gezeigt, daß die α-Naphthol-Schwefelsäuremischung kurze Zeit nach ihrer Bereitung an Wirksamkeit nachließ. Wir halfen uns zunächst in der Weise, daß wir vor Ansetzung der Proben einzelne Portionen von α-Naphthol, je 0,05 g, abwogen und diese unmittelbar vor Zusatz der Zuckerlösung in die Schwefelsäure schütteten. Später ließen wir uns von einer Fabrik[1]) α-Naphtholtabletten von 0,05 g herstellen[2]). Eine weitere Vereinfachung besteht in dem Wegfall der nachträglichen Erwärmung auf 78°: wenn die Vermischung der Schwefelsäure und der wässerigen Lösung stets in einer gewissen, gleichmäßigen Weise vorgenommen wird, erreicht die Reaktionswärme die optimale Temperatur von 76 bis 78°. Unser jetziges Verfahren ist demnach folgendes[3]:)

„Graduierte Röhrchen von nebenstehend abgebildeter Form (Fig. 1) werden bis zur Marke 10 mit konzentrierter Schwefelsäure gefüllt[4]). Auf die Schwefelsäure wirft man eine α-Naphtholtablette und läßt dann aus einer Pipette 2 ccm der zu untersuchenden Flüssigkeit langsam an der Wandung des schräg gehaltenen Glases herabfließen, wobei sich die Ausflußöffnung der Pipette jeweils dicht über dem Flüssigkeitsniveau befinden soll. Darauf ergreift man das Glas am oberen Rande und

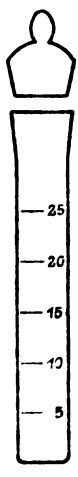


Fig. 1.

[1]) J. D. Riedel, Berlin.

[2]) Zahlreiche Stichproben zeigten, daß das Gewicht der einzelnen Tabletten nur zwischen 0,050 und 0,056 g schwankte.

[3]) Die zur Untersuchung von Blut, Serum usw. erforderliche Enteiweißung findet sich ausführlich beschrieben S. 334.

[4]) Die Schwefelsäure darf, mit etwas α-Naphthol und Wasser versetzt, nur einen leicht gelblichen Farbenton zeigen, dagegen keine Grün- oder Rosafärbung geben.

führt zum Zwecke der Vermischung erst langsam, dann schneller rotierende Bewegungen aus. Hierbei bildet sich bei richtiger Ausführung in dem Gemisch eine karmoisinrote Zone, die fast bis zum Boden des Rohres reicht. Die ev. oben am Glase auftretenden gelblichen Tröpfchen von α-Naphthol kann man leicht durch Neigen und Schwenken des Rohres herunterspülen. Nunmehr überläßt man das Glas der freiwilligen Abkühlung, füllt, wenn diese eingetreten, mit konz. Schwefelsäure genau bis zur Marke 20 auf, verschließt mit dem eingeschliffenen Glasstopfen und mischt das Ganze unter Beobachtung der Vorsichtsmaßregel durch, daß in der Flüssigkeit keine Luftbläschen auftreten, da diese infolge der Viscosität des Gemisches nur langsam emporsteigen und die colorimetrische Bestimmung erschweren. — Eine in derselben Weise behandelte Traubenzuckerlösung von 0,02% dient als Vergleichslösung."

Was den zu verwendenden colorimetrischen Apparat betrifft, so ist es vorteilhaft, einen solchen zu wählen, der bei genügender Genauigkeit schnelles Wechseln der Vergleichslösungen und Arbeiten mit stark sauren Flüssigkeiten gestattet.

Von den neuen Konstruktionen verdienen diejenigen, die auf Verwendung eines Lummer-Brodhunschen Würfels beruhen, den Vorzug vor Doppelpipetten, Glaskeilkompensatoren und ähnlichen Apparaten. Wir haben als sehr brauchbar das kleine Eintauchcolorimeter von Schmidt & Haensch befunden in der Form, die von J. Plesch als Chromophotometer beschrieben worden ist. Der Apparat arbeitet mit nahezu derselben Genauigkeit, aber unvergleichlich schneller und einfacher als ein Spektrophotometer. Das Pleschsche Chromophotometer findet sich ausführlich beschrieben in der Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Ther. 6, 1909.

Das Wesen des Apparates sei an Hand einer schematischen Darstellung (Fig. 2) noch einmal kurz erläutert. Von einer gleichmäßig beleuchteten Fläche S gehen zwei Lichtbüschel l und l' aus. l durchsetzt nach 2maliger Reflexion eine in einem Trog T von genau bekanntem Lumen (20 mm) befindliche gefärbte Lösung und gelangt von da (als Lichtkreis) ins Auge (A). l', einmalig senkrecht aufwärts reflektiert, geht durch einen mit Farblösung beschickten Trog T', in dem sich ein unten geschlossener Glaszylinder auf- und abwärts bewegen läßt, und wird dann mittels

eines Lummer-Brodhunschen Würfels w (in der Zeichnung ein durchbrochener Spiegel) als zu dem ersten konzentrischen Kreis in das Gesichtsfeld projiziert. Mittels des durch ein Triebwerk bewegten Tauchzylinders t wird auf Gleichheit der beiden gefärbten Ringe eingestellt. Dann verhalten sich — Gleichheit des Farbentones in beiden Lösungen vorausgesetzt — die Intensitäten der Färbung oder die Mengen der färbenden Substanz umgekehrt wie die vom Licht durchsetzten Schichtdicken. In unserem Falle befindet sich im Tauchtrog T' die Testlösung von 0,02% Traubenzuckergehalt, im Troge T die Lösung x von unbekannter Konzentration. Die gefundene Schichtdicke der im Troge T' befindlichen Lösung sei a, so gilt, da die Lösung x die Schichtdicke 20 mm hat, die Gleichung:

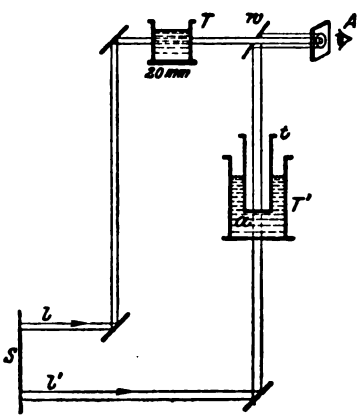


Fig. 2.

$$0{,}02 : x = 20 : a$$

$$x = \frac{0{,}02\,a}{20} = 0{,}001\,a,$$

d. h. man liest unter den gewählten Verhältnissen an der den Tauchzylinder t tragenden Skala direkt die (als Traubenzucker berechnete) Konzentration der zu untersuchenden Lösung in $^1/_{1000}$-Prozenten ab.

Der Apparat verlangt, wie alle Colorimeter, daß die zu prüfende Lösung in ihrer Konzentration nicht allzu weit von der Vergleichslösung abweiche. Die Beobachtungsbreite beträgt etwa $^1/_4$ bis zum 4fachen der Vergleichslösung bei einem Gehalt der letzteren von 0,02% Traubenzucker, also ca. 0,005 bis 0,08%. Geringere Konzentrationen als 0,005% (= 0,05% des Serums) kamen bei unseren Versuchen überhaupt nicht vor, höhere als 0,08% (= 0,8% des Serums) nur in seltenen Fällen, in denen durch geeignete Verdünnung leicht Abhilfe zu schaffen war.

Die Fehlergrenze der Ablesung ist kleiner als 1%, die Fehler der Gesamtbestimmung stellen sich angesichts der verschiedenen notwendigen Operationen naturgemäß höher. Zur Illustration

dieser Gesamtfehlergrenze mögen folgende an titrierten Traubenzuckerlösungen gewonnenen Vergleichsbestimmungen dienen.

Testlösung: 0,02616% Traubenzucker[1]).

Nullpunkt des Colorimeters: 47,0 mm.

Lösung A: 0,5232%

I.		II.	
	85,9 mm		86,4 mm
	86,2 „		86,7 „
	86,2 „		86,6 „
Mittel:	86,11 mm	Mittel:	86,57 mm
Schichtdicke:	39,11 mm	Schichtdicke:	39,57 mm
Gefunden:	0,05114%	Gefunden:	0,05176%
Fehler absolut:	0,00098%	Fehler absolut:	0,00056%
in %:	−2,3	in %:	−1,1

Lösung B: 0,01744%

I.		II.	
	60,2 mm		60,7 mm
	60,0 „		60,4 „
	60,1 „		60,4 „
Mittel:	60,10 mm	Mittel:	60,50 mm
Schichtdicke:	13,10 mm	Schichtdicke:	13,50 mm
Gefunden:	0,01700%	Gefunden:	0,01766%
Fehler absolut:	0,00044%	Fehler absolut:	0,00022%
in %:	−2,6	in %:	+1,3

Nullpunkt des Colorimeters: 43,4 mm.

Lösung C: 0,01800%

I.		II.	
	63,2 mm		62,8 mm
	63,2 „		63,0 „
	63,4 „		63,0 „
Mittel:	63,27 mm	Mittel:	62,93 mm
Schichtdicke:	19,87 mm	Schichtdicke:	19,53 mm
Gefunden:	0,01788%	Gefunden:	0,01758%
Fehler absolut:	0,00022%	Fehler absolut:	0,00042%
in %:	−1,2	in %:	−2,3

[1]) Die angeführten Kontrollbestimmungen stammen aus dem Beginn unserer Untersuchungen, wo wir für die Vergleichslösungen beliebige Konzentrationen benutzten. Sie erfordern eine kleine Rechnung: wenn a die gefundene Schichtdicke der Testlösung, t deren Konzentration, so ist die gesuchte Konzentration (x) nach dem Ansatz $t : x = 20 : a$, $x = \frac{a\,t}{20}$.

Lösung D: 0,01188%	Lösung E: 0,00720%
55,9 mm	51,2 mm
55,6 „	51,2 „
55,6 „	51,3 „
Mittel: 55,70 mm	Mittel: 51,23 mm
Schichtdicke: 12,30 mm	Schichtdicke: 7,83 mm
Gefunden: 0,01107%	Gefunden: 0,00705%
Fehler absolut: — 0,00081%	Fehler absolut: — 0,00015%
in %: — 6,6	in %: — 2,1

Bei den folgenden drei Bestimmungen wurde als Vergleichslösung eine 0,02%ige Traubenzuckerlösung benutzt.

Nullpunkt des Colorimeters: 47,0 mm.

Lösung F: 0,02000%

67,7 mm	67,2 mm	67,5 mm
67,6 „	67,0 „	67,4 „
67,6 „	67,0 „	67,3 „
Mittel: 67,63 mm	Mittel: 67,17 mm	Mittel: 67,40 mm
= 0,02063%	= 0,02017%	= 0,02040%

Mittel: 0,02040%

Fehler absolut: + 0,00040%

in %: + 2,0

Lösung G: 0,01000%

56,2 mm	56,8 mm	57,1 mm
56,3 „	57,0 „	57,0 „
56,3 „	56,9 „	57,0 „
Mittel: 56,27 mm	Mittel: 56,90 mm	Mittel: 57,03 mm
= 0,00927%	= 0,00990%	= 0,01003%

Mittel: 0,00973%

Fehler absolut: — 0,00027%

in %: — 2,7

Die angeführten Zahlen, für die nicht etwa besonders günstige Werte herausgesucht wurden, sondern die einer fortlaufenden Untersuchungsreihe entnommen sind, dürften genügen, um ein Urteil über die Zuverlässigkeit der Methode zu gestatten. Der mittlere Gesamtfehler beträgt, an 40 Kontrollbestimmungen festgestellt:

— 1,8%, also bei 0,3%igem Kohlenhydratgehalt des Serums 0,000011 g.

Hin und wieder kommen größere Abweichungen vor (z. B. Versuch D = — 6,6%), diese sind wohl darauf zurückzuführen, daß der Zusatz der Flüssigkeit zu dem α-Naphthol-Schwefelsäuregemisch zu schnell erfolgte, so daß ein Teil der bei der Reaktion sich bildenden Substanzen verdampfte. Hervorzuheben ist auch, daß in den Gläsern befindlicher Staub, von der Reinigung zurückgebliebene Leinenfäserchen usw. ein erhebliches Plus an Kohlenhydraten vortäuschen können. Bei sorgfältigem Arbeiten sind alle derartigen Fehlerquellen leicht zu vermeiden[1]).

Ein gewisser Nachteil der an sich äußerst einfachen Methode besteht in der Notwendigkeit, für jede Bestimmung oder Bestimmungsreihe eine neue Testlösung herstellen zu müssen. Verdünnte Zuckerlösungen halten sich, auch bei Zusatz antiseptischer Mittel, nur kurze Zeit unverändert. Unsere Untersuchungen haben zwar gelehrt, daß es zulässig ist, eine 1%ige, für jedesmaligen Gebrauch auf das 50fache zu verdünnende Lösung während einiger Tage zu benutzen, wenn sie im Dunkeln gehalten wird und bei der Bereitung eine kleine Portion gepulverten Thymols zugesetzt wurde, das vor der Verwendung durch Filtrieren zu entfernen ist (Toluol oder Chloroform sind als Konservierungsmittel nicht verwendbar, da sie die Farbe beeinflussen). Sicherer ist das von uns besonders im Anfang viel benutzte Verfahren, je 10 ccm einer 0,2%igen Dextroselösung in ausgezogene Reagensröhrchen zu füllen, die nach ¼stündiger Sterilisation im Wasserbade zugeschmolzen werden. Der Inhalt wird zum jedesmaligen Gebrauche quantitativ in einen Hunderterkolben gebracht und auf 100 ccm aufgefüllt. Noch einfacher ist unser jetziges Verfahren, das von einer 0,2%igen Dextroselösung mit Zusatz von 10% Zinksulfat ausgeht (2 g Dextrose und 100 g Zincum sulfuricum cristallis. p. a. zum Liter gelöst). Nach unseren Erfahrungen ist diese Lösung längere Zeit (14 Tage bis 3 Wochen) unverändert haltbar, kann übrigens

[1]) Da bei aller Vorzüglichkeit des Chromophotometers der hohe Preis seiner Verbreitung unter Umständen im Wege steht, so ist in jüngster Zeit von einem von uns (Stein) ein billiges Colorimeter unter dem Namen „Universalchromoskop" konstruiert worden, das speziell der Blutzuckerbestimmung dienen soll, jedoch auch für alle anderen colorimetrischen Zwecke verwendbar ist.

jederzeit nach Pavy bequem auf ihren Titer kontrolliert werden, da sich trotz Ausscheidung von etwas Zinkhydrat beim Kochen der Endpunkt der Titration scharf erkennen läßt. Diese Stammlösung wird zum jedesmaligen Gebrauche 10fach verdünnt. Der Zinkgehalt stört die colorimetrischen Bestimmungen in keiner Weise. Eine haltbare Farblösung von genau gleichen Farbentönen wie die des Zucker-Schwefelsäure-α-Naphtholgemisches herzustellen, ist uns leider nicht gelungen.

Die spektrophotometrische Untersuchung der mit α-Naphthol entstehenden Färbung ergab weit weniger konstante Resultate, als die einfache colorimetrische Vergleichung, was darauf zurückzuführen sein dürfte, daß der gebildete Farbstoff nicht einheitlicher Natur ist. Die Untersuchung im König-Martensschen Spektralphotometer (Wiedemanns Ann. 53, 1894; Ann. d. Phys. IV. F., 12, 1903) ergab für das Spektrum eine im Gebiet 660 $\mu\mu$ beginnende Absorption, die bei ca. 560 $\mu\mu$ ein Maximum erreicht. Es gelang uns jedoch nicht, konstante, der Konzentration der angewandten Zuckerlösung proportionale Werte des Extinktionskoeffizienten für die verschiedenen Spektralregionen zu erhalten, die die Aufstellung eines „Absorptionsverhältnisses“ $\left(\frac{\text{Konzentration}}{\text{Extinktionskoeffizient}}\right)$ und damit eine quantitative Spektralanalyse ermöglicht hätte. Auf diese konnte übrigens um so eher verzichtet werden, als sie nur den Vorzug besitzt, die Herstellung einer Testlösung für jede Einzeluntersuchung entbehrlich zu machen, im übrigen aber einen recht erheblichen Aufwand an Zeit und Mühe für Beobachtung und rechnerische Auswertung erfordert.

Da es sich bei unseren Untersuchungen hauptsächlich um Blut und Serum handelt, Flüssigkeiten, deren Gehalt an Traubenzucker vielfach Gegenstand der Untersuchungen gewesen ist, war es von Interesse und zugleich von Bedeutung für die Kontrolle unserer die Gesamtkohlenhydrate anzeigenden Methode, vergleichende Traubenzuckerbestimmungen nach einer der bekannten Methoden auszuführen. Die so gewonnenen Werte sind im Zusammenhang auf S. 340 angeführt. Die Bestimmung des Traubenzuckers geschah, abgesehen von einigen Fällen gravimetrischer Analyse nach Pflüger-Allihn[1]), nach der Pavy-Kumagawa-Suto-

[1]) Pflüger, Das Glykogen. Bonn 1902.

schen Methode[1]). Letzteres Verfahren steht an Genauigkeit dem gewichtsanalytischen nicht nach, übertrifft es aber bedeutend an Schnelligkeit und Einfachheit der Ausführung. Kinoshita[2]), der das modifizierte Pavysche Verfahren eingehend nachprüfte, fand es bei Traubenzuckerkonzentrationen von 0,5 bis 0,1% praktisch fehlerfrei. Der mittlere Fehler der einzelnen Bestimmungen nach Kinoshita beträgt bei einer Konzentration der Glucoselösung von

0,5%: ±0,0067
0,3%: ±0,0049
0,2%: ±0,0006
0,1%: ±0,0011

Da in neuerer Zeit mehrfach die Genauigkeit des Pavyschen Verfahrens angezweifelt wurde, wir außerdem teilweise mit Zuckerlösungen zu arbeiten hatten, die unter der von Kinoshita geprüften Minimalkonzentration von 0,1% lagen, führten wir eine Reihe von Kontrollversuchen an Lösungen von chemisch reiner Glucose bekannten Titers aus.

Nr.	Glucoselösung verbraucht ccm	Glucose gefunden %	Glucose berechnet %	Abweichung vom wahren Wert	Fehler %
1a	4,20	0,2381	0,2387	−0,0006	0,25
1b	4,22	0,2370	0,2387	−0,0017	0,71
2a	4,36	0,2294	0,2294	±0,0000	0,00
2b	4,37	0,2228	0,2294	−0,0006	0,26
2c	4,34	0,2304	0,2294	+0,0010	0,44
3a	8,73	0,1147	0,1147	±0,0000	0,00
3b	8,69	0,1151	0,1147	+0,0004	0,33
4a	14,08	0,0710	0,0720	−0,0010	1,40
4b	14,00	0,0719	0,0720	−0,0001	0,14
5	21,82	0,0476	0,0458	−0,0018	3,3
6	35,75	0,0280	0,0287	−0,0007	2,4
7	41,00	0,0244	0,0239	+0,0005	2,0

Diese Zahlen ergeben die vollständige Zuverlässigkeit der Pavy-Kumagawa-Methode, soweit reine Dextroselösungen in Betracht kommen, auch für Konzentrationen, die noch unterhalb der von Kinoshita zur Untersuchung gezogenen Grenze

[1]) Salkowski, Festschrift 1904.
[2]) Diese Zeitschr. 9, 219, 1908.

von 0,1% liegen; selbst bei Konzentrationen von 0,02 bis 0,03% (Versuch 6 und 7) Dextrose sind die Werte noch relativ befriedigend.

Enteiweißung.

Eiweißhaltige Flüssigkeiten müssen für jede Art von Zuckerbestimmung von Eiweiß befreit werden. Die Methoden, die tiefergehende chemische Eingriffe erfordern und das Eiweiß durch Kochen oder Schwermetallsalze koagulieren, wie das Verfahren von Ritthausen, Schenck, Abeles u. a., sind, abgesehen von der Umständlichkeit, stets mit der Notwendigkeit verknüpft, das Eiweißkoagulum durch Auswaschen von eingeschlossenem Zucker zu befreien, und bieten außerdem die Gefahr, daß durch die chemischen Operationen selbst der Zucker verändert oder in lockerer chemischer Verbindung befindlicher Zucker (sucre virtuel von Lépine?) in Freiheit gesetzt wird. Diesen Unannehmlichkeiten entgeht man durch Anwendung der Fällung mittels kolloidaler Absorption, wobei man sich mit Vorteil der Methode von Rona und Michaelis[1]) (Enteiweißung mit kolloidalem Eisenhydroxyd) bedient. Die Methode leistet nach den mit Zahlen belegten Angaben der Autoren sowohl bei der Enteiweißung von Serum wie besonders auch von Blut und Harn vortreffliche Dienste, da sie zugleich mit dem Eiweiß die Farbstoffe vollständig entfernt, so daß eine wasserklare Flüssigkeit als Filtrat erhalten wird. Rona und Michaelis geben folgende Beschreibung des Verfahrens: „50 ccm Serum oder Plasma werden auf das 10 bis 12fache verdünnt und mit 40 ccm Ferrum oxydatum dialysatum tropfenweise unter lebhaftem Umschütteln versetzt. Damit ist das Enteiweißen vollendet. Die wasserklare, eiweiß- und eisenfreie Flüssigkeit kann sofort abfiltriert werden. Da das kathodische Eisenhydroxyd die Farbstoffe gleichzeitig völlig mitreißt, kann die Flüssigkeit (bei schwach saurer Reaktion) bis auf 10 bis 15 ccm eingeengt werden, ohne sich im geringsten Maße zu trüben oder sich dunkler zu färben, und ist daher zum Polarisieren vortrefflich geeignet. Einhaltung der angegebenen Mengenverhältnisse ist übrigens zum guten Gelingen der Enteiweißung durchaus erforderlich, anders wie bei der Kaolinmethode, wo es auf so

[1]) Diese Zeitschr. 7 und 18.

genaue Mengenverhältnisse nicht ankommt. Die Ursache hierfür liegt darin, daß der Prozeß beim Eisenhydroxyd reversibel, beim Kaolin nicht reversibel ist. Die untersuchten Blutarten kamen 10 Minuten bis $^1/_2$ Stunde nach der Entnahme zur Verarbeitung."

Wir möchten nach unseren eigenen Erfahrungen noch einige Angaben, zunächst bezüglich der praktischen Ausführung, hinzufügen. Das kolloidale Eisenhydroxyd stellt man sich am besten selbst her, und zwar in folgender Weise: Reines Eisenchlorid wird in der 3fachen Menge Wasser gelöst und unter ständigem Umrühren Kali- oder Natronlauge hinzugefügt; von Zeit zu Zeit wird durch Lackmuspapier auf Neutralität geprüft. (Da Ferr. sesquichlor. einen sehr wechselnden Wassergehalt hat, läßt sich über die Menge des zuzusetzenden Alkalis keine allgemeine Angabe machen.) Der Zusatz der Lauge soll nur so lange erfolgen, bis gerade alkalische Reaktion eintritt. Schon vorher pflegt sich Eisenhydroxyd in fester Form auszuscheiden, das aber durch anhaltendes Umrühren oder längeres Stehenlassen wieder in Lösung gebracht werden kann. Ist der Neutralitätspunkt überschritten, so tritt eine massenhafte Ausscheidung von Eisenhydroxyd auf, man fügt dann einige Kubikzentimeter Eisenchloridlösung, die man sich von Anfang an reserviert hat, zu dem Gemenge, rührt weiter um und läßt stehen, bis wieder vollständige Lösung eingetreten ist. Die Flüssigkeit wird alsdann in Dialysierschläuche gefüllt und mehrere Tage dialysiert, bis alles Eisenchlorid entfernt ist. Dies erkennt man daran, daß das Filtrat einer mit einigen Tropfen Kaliumsulfat ausgefällten Probe keine Reaktion mit Ferrocyankalium oder Kaliumrhodanid mehr gibt. Das erhaltene Ferr. oxyd. dialys. verdünnt man zu einem spez. Gewicht 1,15 = 10%.

In der Eisenhydroxydlösung bewirkt der Zusatz von Basen, Säuren oder Salzen sofort eine vollständige flockige Ausfällung, die anwesende Kolloide und Farbstoffe adsorbiert. Wir verwenden zur Ausfällung eine gesättigte Lösung von Kaliumsulfat, und zwar 1 ccm auf je 10 ccm angewandter Eisenlösung. Das häufig angewandte NaCl wirkt weit weniger energisch ausflockend als die Alkalisulfate (und ist wegen der beim späteren Zusatz von H_2SO_4 auftretenden Entwicklung von HCl ungeeignet). Noch energischer wirkt $MgSO_4$, doch verbietet sich dessen Anwendung in allen Fällen, in denen zur Zuckerbestimmung das Filtrat später ammoniakalisch gemacht werden muß, wie bei der Titration nach Pavy, wegen Ausfällens von Magnesiumhydroxyd. Was die anzuwendende Verdünnung und die Menge des zur vollständigen Entfernung von Eiweiß aus Blut oder Serum erforderlichen $Fe(OH)_3$ betrifft, so ist nach unseren Erfahrungen

ein so genaues Innehalten der Mengenverhältnisse, wie Rona und Michaelis vorschreiben, nicht erforderlich. Es bleibt sowohl für die Verdünnung wie für die Menge des zugesetzten Kolloids ein weiter Spielraum. Erstere kann das 3 bis 20fache der ursprünglichen Lösung betragen, ohne daß eine Reversion des Vorganges eintritt. Die Menge des Eisenhydroxyds wählt man so, daß sie die zur Ausfällung nötige Menge etwas übersteigt.

Man erkennt den Augenblick, in dem alles Eiweiß aus der Flüssigkeit entfernt ist, daran, daß beim Umschütteln der Flüssigkeit der anfangs gedämpfte Ton plötzlich hell metallisch wird. Das Verfahren ist also beispielsweise so, daß 10 ccm Serum auf 30 bis 40 ccm verdünnt, mit 2 ccm Kaliumsulfatlösung, mit 20 ccm Eisenlösung versetzt und auf 100 ccm aufgefüllt werden. Es kann dann sofort filtriert werden.

„Bei unseren Untersuchungen, bei denen stets 2 ccm Blut oder Serum zur Bestimmung kommen, wird diese Menge in graduierten Röhrchen (Abb. 1) mit 1 ccm Kaliumsulfatlösung versetzt, bis Marke 10 ccm mit destilliertem Wasser aufgefüllt, dann werden aus einer Bürette 5 bis 7 ccm Eisenhydroxyd in dünnem Strahl zugefügt, auf 20 ccm mit destilliertem Wasser aufgefüllt und umgeschüttelt. Durch ein kleines Faltenfilter wird filtriert, von dem wasserklaren, eiweiß- und eisenfreien Filtrat werden mit der Pipette 2 ccm entnommen und in der früher beschriebenen Weise zur colorimetrischen Bestimmung verwandt." Eine nur scheinbare Fehlerquelle liegt darin, daß das ausgefällte Eiweiß-Eisenhydroxyd einen gewissen Raum einnimmt, so daß nach der Ausflockung nicht 20 ccm Flüssigkeit, sondern weniger vorhanden sind, somit die entnommenen 2 ccm nicht in Wahrheit dem 10. Teil des Ausgangsquantums entsprechen. Dieser Fehler ist jedoch trotz des scheinbar recht bedeutenden Volums des Niederschlages vollständig zu vernachlässigen. Der getrocknete Rückstand von 5 ccm Eisenhydroxydlösung nimmt nach vorgenommener Bestimmung nur einen Raum von 0,06 ccm ein, das sind 0,3% Fehler bei der Volumabmessung! Das Volumen des ausgefällten Eiweißes ist gleichfalls zu vernachlässigen. Weiter sei erwähnt, daß das von der Eiweißfällung erhaltene Filtrat

in seinen einzelnen Portionen, abgesehen von den ersten 2 bis 3 Tropfen, die durch das Filter eine Konzentration erfahren, und die man daher besser verwirft, absolut gleichmäßig ist, es entspricht also in der Tat die zur Bestimmung entnommene Probe 0,2 ccm Blut oder Serum. Eine weitere Frage ist die, ob durch das Fällungsmittel Zucker in analytisch faßbarer Menge absorbiert wird. Nach der Untersuchung von Rona und Michaelis ist das nicht der Fall, trotzdem glaubten wir über diesen wichtigen Punkt noch eigene Untersuchungen anstellen zu sollen, die, wie das Folgende lehrt, ergeben haben, daß die Angabe der genannten Verfasser zutrifft, daß aber doch unter gewissen Verhältnissen eine Adsorption von Zucker in beträchtlichem Maße stattfinden kann, so daß gewisse Vorsichtsmaßregeln zu beobachten sind:

50 ccm 0,04%iger Traubenzuckerlösung wurden einerseits mit Wasser auf das doppelte Volumen verdünnt (Lösung I, Kontrolle), andererseits mit 40 ccm Eisenhydroxydlösung und 5 ccm Kaliumsulfat versetzt und zu 100 ccm aufgefüllt, darauf filtriert (Lösung II). Die Zuckerbestimmung nach der colorimetrischen Methode ergab:

Lösung I.	Lösung II.
0,01997%	0,02077%
0,02007%	0,02103%
Mittel: 0,02002% (ber. 0,0200%)	0,02090% (ber. 0,0200%)

Eine Reihe weiterer Bestimmungen wurde nach Pavy Kumagawa-Suto ausgeführt.

Lösung III: 20 ccm 0,5%ige Dextroselösung auf 200 ccm verdünnt (Kontrolle).

Lösung IV: 20 ccm 0,5%ige Dextroselösung mit 40 ccm Eisenhydroxyd und 5 ccm Kaliumsulfatlösung versetzt, auf 200 ccm aufgefüllt.

Lösung V: 10 ccm 1,12%ige Dextroselösung auf 150 ccm aufgefüllt (Kontrolle).

Lösung VI: 10 ccm 1,12%ige Dextroselösung + 40 $Fe(OH)_3$ + 5 K_2SO_4 auf 150 ccm aufgefüllt.

Lösung III: Verbraucht 20,2 ccm = 0,0495%
„ IV: „ 20,3 „ = 0,0493 „ } ber.: 0,0500%.

„ V: „ 13,45 „ = 0,0744 „
„ VI: „ 13,55 „ = 0,0737 „ } ber.: 0,0750%.

Eine Reihe anderer Bestimmungen ergab das gleiche Resultat, daß nämlich eine Adsorption von Zucker durch Eisenhydroxyd nicht stattfindet. Völlig anders wurde jedoch das Bild, als wir außer Kaliumsulfatlösung noch Ammoniak zu dem Reaktionsgemisch hinzufügten. Es geschah dies aus folgendem Grunde: Wir benutzten versuchsweise, um uns die zeitraubende Operation des Dialysierens der Eisenlösung zu ersparen, käufliches Ferr. oxyd. dialys. Dabei zeigte sich, daß bei der Pavyschen Zuckerbestimmung in der ammoniakalischen Lösung beim Kochen braune Flocken ausfielen, die die Erkennung der Endreaktion — der völligen Entfärbung der anfangs blauen Flüssigkeit — unmöglich machten. Merkwürdigerweise gab das ursprünglich wasserklare Filtrat weder mit Ferro-Ferricyankalium noch mit Rhodankalium eine Färbung, das Eisen mußte also in einer sich dem gewöhnlichen Nachweis entziehenden, ev. in nicht dissoziierter Form vorhanden sein; doch handelte es sich nicht, wie nachgewiesen werden konnte, etwa um nicht ausgefälltes Eisenhydroxyd. Wurde von Anfang an zu der zu enteiweißenden Flüssigkeit $NaHCO_3$ oder NH_3 zugesetzt, so trat die störende Erscheinung infolge völliger Ausfällung des Eisens nicht auf, dafür zeigte sich aber, daß Zucker, und zwar ungefähr proportional der Menge des zugesetzten Alkalis, absorbiert wurde. Wir behalten uns vor, diese unseres Wissens bisher nicht bekannte Erscheinung weiter zu verfolgen, wir erwähnen sie hier hauptsächlich, weil die Anwendung von Eisenhydroxyd zur Enteiweißung bzw. Entfärbung von Urin empfohlen worden ist, nach dem Gesagten aber bei Verwendung alkalischer, speziell ammoniakalischer Harne beträchtliche Fehler entstehen können. Nachstehend einige der von uns erhaltenen Zahlen (die Bestimmungen sind durchweg nach Pavy-Kumagaw-Suto ausgeführt).

	Verbraucht ccm	Gefunden %	Berechnet %
1. 20 ccm 1%ige Dextroselösung, auf 200 ccm verdünnt	I. 9,38	0,107	0,100
	II. 9,60	0,104	0,100
1a. 20 ccm 1%ige Dextroselösung mit 20 ccm Eisenhydroxyd und 5 ccm K_2SO_4 versetzt, auf 200 ccm aufgefüllt	9,58	0,104	0,100

	Verbraucht ccm	Gefunden %	Berechnet %
1b. 20 ccm 1%ige Dextroselösung mit 50 ccm Eisenhydroxyd und 5 ccm NH_3 (spez. Gew. 0,92) auf 200 ccm aufgefüllt	I. 20,0 II. 20,0	0,050 (!) 0,050 (!)	0,100 0,100
2. 20 ccm 1%ige Dextroselösung mit 50 ccm Eisenhydroxyd und 5 ccm K_2SO_4 auf 200 ccm aufgefüllt	10,0	0,100	0,100
2a. Dasselbe mit 0,5 ccm NH_3 .	11,3	0,089	0,100
2b. Dasselbe mit 1 ccm NH_3 . .	12,3	0,081	0,100
2c. Dasselbe mit 10 ccm NH_3 .	18,9	0,053	0,100
3. 20 ccm 1%ige Dextroselösung, auf 200 ccm verdünnt . . .	10,0	0,100	0,100
3a. Dasselbe mit 50 ccm Eisenhydroxyd + 5 ccm NH_3, auf 200 ccm verdünnt	13,3	0,075	0,100
3b. Zu obigem nochmals 5 ccm NH_3	20,0	0,050	0,100

(In den folgenden Versuchen wurden stets 20 ccm 1%ige Dextroselösung mit 5 ccm gesättigter K_2SO_4-Lösung und der angegebenen Menge Ammoniak versetzt, dann auf 200 ccm aufgefüllt.)

	NH_3 ccm	Verbraucht ccm	Gefunden %	Berechnet %
4.	5	12	0,0833	
5.	10	17,2	0,058	
6.	15	32,4	0,031	0,100
7.	15	35,8	0,028	
8.	25	43,2	0;023	

Nach den angeführten Zahlen ist die absolut neutrale Reaktion des eiweißhaltigen Gemisches zur Erzielung richtiger Resultate unbedingt erforderlich. In Versuch 2a z. B. genügte der Zusatz von 0,5 ccm Ammoniak zu der Gesamtlösung von 200 ccm Volumen, um statt eines Prozentgehaltes von 0,100 Dextrose einen von 0,089 zu ergeben, es findet also eine Retention von 11% der Gesamtzuckermenge statt. In dem Falle, daß die käufliche Eisenlösung durch Salzzusatz nicht vollständig ausgeflockt wird, so daß nachträgliches Kochen des Filtrates mit Alkali, im vorliegenden Falle mit Pavyscher Lösung, eine Trübung ergibt, ist also

weiteres Dialysieren der Eisenlösung erforderlich, bis der nötige Grad von Reinheit, d. h. Abwesenheit aller anderen Eisenverbindungen außer kolloidalem Eisenhydroxyd, erreicht ist.

Es bleibt schließlich die Frage zu erörtern, wie weit die nach der colorimetrischen Methode gewonnenen Werte mit den auf dem üblichen analytischen Wege (nach Allihn-Pflüger, Pavy u. a.) erlangten übereinstimmen.

Vergleichende Bestimmungen der Gesamt-Kohlenhydrate durch Colorimetrie und des Traubenzuckers durch Reduktion in Blut und Serum.

Untersuchte Substanz	Bestimmung durch Reduktion	Dextrose im Blut bzw. Serum %	Bestimmung durch Colorimetrie	Kohlenhydrate im Blut bzw. Serum %	Differenz %	
1. Serum vom Hund. Verwandt 50 ccm Serum, zur Enteiweißg. auf 200 ccm aufgefüllt, Filtrat auf $^1/_2$ Volum eingedampft.	Nach Pavy. Verbraucht: 18,2 ccm = 0,0549%	0,1098	Testlösung: 0,04% Schichtdicke: 28,1 mm = 0,0562%	0,1124	+2,4	
2. Dasselbe Serum nach 6stündigem Stehen.	Nach Pavy. Verbraucht: 18,7 ccm = 0,0534%	0,1068	Testlösung: 0,04% Schichtdicke: 27,0 mm = 0,0540%	0,1080	+1,1	
3. Serum vom Hund in tiefer Morphiumnarkose. Verwandt 27 ccm Serum, zur Enteiweißung auf 100 ccm aufgefüllt.	Nach Pavy. Verbraucht: 21,4 ccm = 0,0467%	0,173	Testlösung: 0,05% Schichtdicke: 21,7 mm = 0,0543%	0,216	+25,1	
4. Serum vom Hund, 6 Std. nach Morphiumnarkose. Verwandt 37 ccm Serum, zur Enteiweißung auf 200 ccm aufgefüllt.	Nach Pavy[1]). Verbraucht: 17,5 ccm = 0,0286%	0,155	Testlösung: 0,0441% Schichtdicke: 7,3 mm[2]) = 0,0161%	0,161	+4,0	[1]) Es wurden zur Bestimmung nur 10 ccm Pavyscher Lösung (= 5 mg Dextrose) verwandt. [2]) Zur Colorimetrie wurden 2 ccm Serum, auf 20 ccm aufgefüllt, gesondert enteiweißt.
5. Serum v. Mensch (Nüchternblut nach 24 std. Stehen). Verwandt 37 ccm, auf 150 ccm aufgefüllt.	Nach Pavy[3]). Verbraucht: 28,4 ccm = 0,0176%	0,0714	Testlösung: 0,02% Schichtdicke: 18,0 mm = 0,0180%	0,0730	+2,3	[3]) Siehe unter 4.

Fortsetzung vorstehender Tabelle.

Untersuchte Substanz	Bestimmung durch Reduktion	Dextrose im Blut bzw. Serum %	Bestimmung durch Colorimetrie	Kohlenhydrate im Blut bzw. Serum %	Differenz %	
6. Serum v. Mensch (Nüchternblut). Verwandt 12 ccm, auf 50 ccm aufgefüllt.	Nach Pavy[4]). Verbraucht: 18,55 ccm = 0,0269 %	0,112	Testlösung: 0,02 % Schichtdicke: 12,1 mm[5])	0,121	+ 8,2	[4]) Siehe unter 4. [5]) do.
7. Serum v. Mensch (Diabetiker, nüchtern). Verwandt 30 ccm, auf 200 ccm aufgefüllt.	Nach Pavy. Verbraucht: 22,6 ccm = 0,0442 %	0,294	Testlösung: 0,02 % Schichtdicke: 31,8 mm[5])	0,318	+ 8,0	
8. Serum v. Mensch (Diabetiker, nach Aufnahme v. 100 g Dextrose). Verwandt 18 ccm, auf 100 ccm aufgefüllt.	Nach Pavy. Verbraucht: 14,2 ccm = 0,0704 %	0,391	Testlösung: 0,02 % Schichtdicke: 20,4 mm[6])	0,408	+ 4,3	[6]) Die α-Naphthollösg. war, weil zu dunkel, auf doppeltes Volum verdünnt worden.
9. Serum v. Mensch. Verwandt 30 ccm, auf 150 ccm aufgefüllt, vom Filtrat verwandt 50 ccm.	Nach Allihn-Pflüger. Gefunden: 0,0178 g Cu_2O = 0,0082 g Dextrose	0,082	Testlösung: 0,01 % Schichtdicke: 16,0 mm[7])	0,080	− 2,5	[7]) Siehe unter 4.
10. Serum vom Hund in tiefer Morphiumnarkose. Verwandt 40 ccm, auf 200 ccm aufgefüllt, vom Filtrat verwandt 100 ccm.	Nach Allihn-Pflüger. Gefunden: 0,1250 g Cu_2O = 0,0510 g Dextrose	0,251	Testlösung: 0,02 % Schichtdicke: 29,6 mm[8])	0,296	+ 15	[8]) Siehe unter 4.

Bemerkung zu vorstehender Tabelle.

Es sind außer den hier angeführten noch eine größere Anzahl ähnlicher Bestimmungen ausgeführt worden; wir bringen die entsprechenden Daten später im Zusammenhange, erstens weil dieser erste Teil im wesentlichen der Methodik gewidmet ist und weil wir ferner aus bestimmten Gründen Wert darauf legen, die Veröffentlichung dieses Teils unverändert in der Form, in der er ursprünglich (im Frühjahr 1910) niedergeschrieben wurde, erfolgen zu lassen.

Beim Vergleich der durch Reduktion einerseits, durch die α-Naphtholprobe andererseits erhaltenen Werte darf nicht außer

acht gelassen werden, daß durch die letztere andere Körper bestimmt werden, als durch die üblichen Zuckerbestimmungsmethoden. Es bleibt in jedem einzelnen Falle die Frage offen, welchen Teil der Gesamtkohlenhydrate der physiologische Zucker κατ' ἐξοχήν, der Traubenzucker, ausmacht. Daß die Mengen beider auch für Serum nicht ohne weiteres zu identifizieren ist, geht bereits aus den wenigen, oben angeführten Werten hervor. Nach unseren bisherigen Erfahrungen erreicht die Differenz (das Plus an Kohlenhydraten gegenüber reinem Traubenzucker) besonders bei Narkose, bei starker Ermüdung sowie in manchen Fällen von Diabetes eine nicht unbeträchtliche Höhe. Dieser wichtige Punkt wird noch Gegenstand weiterer Untersuchungen sein, an dieser Stelle wollen wir nur auf zweierlei hinweisen. Das erste ist, daß das in obiger Tabelle zahlenmäßig ausgedrückte Plus nicht ohne weiteres als absoluter Wert anzusehen ist. Das wäre nur dann berechtigt, wenn sämtliche Kohlenhydrate bei gleicher Gramm-Volum-Konzentration dieselbe Farbstärke ergeben würden. Dies ist indes nicht der Fall, vielmehr finden sich hier Unterschiede, die weiter zu verfolgen wir uns indes vorläufig versagen müssen, da uns dies zu weit von unserem Thema abführen würde. Einen ziemlich zuverlässigen Anhalt für die mehr oder minder große Menge vorhandener, ihrer Natur nach unbekannter Kohlenhydrate geben die Zahlen trotzdem. Der zweite Punkt ist der naheliegende Einwand, daß wir nicht wissen, welcher Teil der nicht als Traubenzucker vorhandenen Kohlenhydrate von physiologischem Nutzwert ist; es könnten sich hierunter Stoffe, wie Glucuronsäure, befinden, die am oxydativen Stoffwechsel nicht mehr teilnehmen. Dem ist entgegenzuhalten, daß Abbauprodukte von kohlenhydratartigem Charakter, die also noch die Furfurolreaktion geben, die aber andererseits als Endprodukte der regressiven Stoffmetamorphose für den Organismus keinen calorischen Wert mehr besitzen, nach den bisherigen Untersuchungen normalerweise nur in verschwindender Menge im Blute vorkommen. Den anderen löslichen Kohlenhydraten jedoch wird man, auch wenn ihre Natur noch nicht näher bekannt ist, im Energiehaushalt des Organismus dieselbe Rolle zuweisen dürfen, welche der Traubenzucker spielt.

Bei Untersuchungen über die Beziehungen zwischen Kohlenhydratstoffwechsel und Kohlenhydratgehalt des Serums, die wir

in Angriff genommen haben, wäre es geradezu ein methodischer Fehler gewesen, nachdem einmal das Vorkommen verschiedenartiger Kohlenhydrate festgestellt war, den Traubenzucker als einzigen Vertreter derselben zu berücksichtigen, nur weil er der Menge nach überwiegt, infolge der im Grunde zufälligen Eigenschaft seines Reduktionsvermögens leicht quantitativ zu bestimmen und gerade deshalb die Erkenntnis seiner physiologischen Funktionen am weitesten vorgeschritten ist.

Der Übersicht halber geben wir zum Schluß noch einen kurzen Abriß des Verfahrens nebst Zusammenstellung der erforderlichen Apparate und Reagenzien.

Enteiweißung.

2 ccm Serum bzw. Blut werden in ein graduiertes Rohr wie Fig. 1 gefüllt, mit destilliertem Wasser etwa bis Marke 10 verdünnt, darauf werden 1 bis 2 ccm konzentrierter Kaliumsulfatlösung und in dünnem Strahle 6 bis 7 ccm einer 10%igen Lösung von Ferrum oxyd. dialys. zugefügt, mit destilliertem Wasser bis Marke 20 aufgefüllt (ist dieser Punkt aus Versehen überschritten, bis Marke 25, wobei dann das Endresultat mit $^5/_4$ zu multiplizieren ist), umgeschüttelt und durch ein kleines Faltenfilter filtriert. Die ersten Tropfen des Filtrates werden verworfen.

Herstellung der zu colorimetrierenden Lösung.

In ein graduiertes Rohr wie Fig. 1 werden ca. 10 ccm konz. Schwefelsäure gefüllt, auf diese eine α-Naphtholtablette geworfen, sodann 2 ccm des wie oben beschrieben erhaltenen Filtrates zugefügt, die man an der Wand des schräg gehaltenen Rohres langsam herabfließen läßt, so daß die Ausflußöffnung der Pipette jeweils dicht über dem Flüssigkeitsniveau liegt. Dann ergreift man das Rohr am oberen Rande fest mit Daumen und Zeigefinger der rechten Hand und führt erst langsam, dann schneller kreisende Bewegungen derart aus, daß das Rohr den Mantel eines Kegels beschreibt, dessen Spitze im Handgelenk liegt, so lange, bis die sich entwickelnde Färbung den Boden des Glases erreicht hat (ca. $^1/_2$ Minute) Etwa an der Wand oberhalb des Gemisches haftende Teilchen von α-Naphthol werden durch Neigen des Glases herabgespült, dann läßt man das Rohr, mit dem Stopfen bedeckt, bis zur Abkühlung auf Zimmertemperatur stehen und füllt schließlich mit konz. Schwefelsäure bis zur Marke 20 auf. Die Mischung des Ganzen erfolgt durch mehrmaliges Hin- und Herneigen des verschlossenen Gefäßes mit der Vorsicht, daß keine Luftblasen in der Lösung entstehen. — Die Testlösung wird hergestellt, indem 2 ccm einer 0,02%igen Traubenzuckerlösung in gleicher Weise behandelt werden. Bei der Colorimetrie fällt man zweckmäßig die Testlösung in den Trog von variabler, die Vergleichslösung in den

Trog von konstanter Schichtdicke; beträgt die letztere 20 mm und ergibt die Ablesung eine Schichtdicke der Testlösung von a mm, so ist der Prozentgehalt der untersuchten Lösung $a \cdot 0{,}001\,\%$ (bei 10 mm $2a \cdot 0{,}001\,\%$, bei 30 mm $^2/_3 a \cdot 0{,}001\,\%$).

Reagenzien und Apparate.

Konz. Schwefelsäure, spez. Gew. 1,84.

Test-Traubenzuckerlösung von 0,02%, für jedesmaligen Gebrauch herzustellen durch 50fache Verdünnung einer 1%igen, 10% Zinksulfat enthaltenden Stammlösung (2 bis 3 Wochen haltbar).

Kohlenhydratfreie α-Naphtholtabletten von 0,05 g (zu beziehen von J. D. Riedel, Berlin N.).

Sol. Ferr. oxyd. dialys. 10%, spez. Gew. 1,15 (frei von Eisenchlorid), E. Merck, Darmstadt.

Reagensröhrchen, von 0 bis 25 ccm graduiert, mit eingeschliffenem Stopfen (zu beziehen von Paul Altmann, Berlin, Luisenstraße).

Zwei graduierte Pipetten von je 2 ccm, Trichter, Faltenfilter usw.

Colorimeter: Entweder das Chromophotometer von Plesch (Schmidt u. Haensch, Berlin) oder das Universalchromoskop nach Stein (Univ.-Mechaniker Oehmke, Berlin NW.).

Ein experimenteller Beitrag zur Kenntnis der Fettwanderung bei der Phosphorvergiftung mit Berücksichtigung der Herkunft des Fettes im Tierorganismus.

Von

Naganichi Shibata.

(Aus dem medizinisch-chemischen Institut der Universität Tokio.)

(Eingegangen am 4. September 1911.)

Bereits im Jahre 1883 trat A. Lebedeff[1]) gegen die zurzeit allgemein herrschende Ansicht von der Entstehung des Fettes aus Eiweiß im Tierkörper auf. Er hob gegen die Beweisführung der herrschenden Lehre mancherlei theoretisches Bedenken hervor und stellte statt dessen eine neue Theorie der Fettwanderung auf. Zur Begründung seiner neuen Anschauung führte Lebedeff die seitdem vielfach zitierten Hundeversuche mit Phosphorvergiftung an.

Ein magerer Hund (11,6 kg schwer) wurde über 10 Tage lang mit fettarmem Fleisch und Leinöl gefüttert. Im Laufe dieser Zeit verzehrte das Tier 2680 g Fleisch und 2015 g Leinöl. Als das Tier nach 24stündigem Fasten mit Phosphor vergiftet wurde, fand Lebedeff bei der Sektion des Tieres eine exquisite Fettleber mit großer Fettanhäufung, wie man sie bei der akuten Phosphorvergiftung fast immer zu beobachten pflegt. Wenn das Leberfett, wie nach der herrschenden Lehre, aus dem infolge der Phosphorvergiftung massenhaft zerfallenen Eiweiß entstanden wäre, so müßte das angehäufte Fett in der Leber unbedingt Hundefett sein, weil eine Neubildung körperfremden Leinöls aus Eiweiß im Hundeorganismus ganz undenkbar ist. Nach der chemischen Untersuchung erwies sich indessen das vermehrte Leberfett zum großen Teile als typisches Leinöl. Aus diesem Befunde hat Lebedeff den Schluß gezogen, daß das vorwiegend aus Leinöl bestehende Leberfett nicht aus

[1]) A. Lebedeff, Woraus bildet sich das Fett in Fällen der akuten Fettbildung? Arch. f. d. ges. Physiol. 31, 1883.

Eiweiß entstanden, vielmehr aus dem Leinöllager im Unterhautgewebe durch Blutzirkulation nach der Leber hin transportiert worden ist. Ein zweiter stark abgemagerter Hund, der mit Hammeltalg und Schweinespeck gefüttert wurde, setzte reichlich fremdes Fett in der Leber ab. Nachdem Lebedeff außerdem die Zusammensetzung der Milch einiger Tiere untersucht hatte, und bei der Herkunft des Milchfettes ebenfalls auf den Transport des Körper-, resp. Nahrungsfettes hinwies, verwarf er die Lehre der physiologischen wie pathologischen Fettbildung aus Eiweiß im Tierorganismus überhaupt. Bald darauf stellte H. Leo[1]) eingehende Versuche über Phosphorvergiftung teils an Meerschweinchen, teils an Fröschen und teils an Mäusen an, um die Richtigkeit der Lebedeffschen Angabe zu prüfen. Dabei gelangte Leo zu dem Resultate, daß bei der Phosphorvergiftung in der Tat ein Fetttransport im Tierorganismus stattfindet. Indes hat Leo gleichzeitig eine Möglichkeit der Fettneubildung bei der Phosphorvergiftung angenommen.

Die Anschauung von Lebedeff fand bei den Zeitgenossen keine günstige Aufnahme und ist bald mehr und mehr in Vergessenheit geraten. Der Grund davon liegt wohl darin, daß die Lehre von der Entstehung des Fettes aus Eiweiß im Organismus hauptsächlich von zwei hervorragenden Männern, namentlich von R. Virchow betreffs der pathologischen und von C. Voit betreffs der physiologischen Seite der Frage aufgestellt worden ist. So behauptete sich die alte Lehre nach wie vor ganz ungestört, und niemand vermochte an ihrer Richtigkeit zu zweifeln, bis im Jahre 1892 E. Pflüger[2]) dieselbe von neuem einer strengen Kritik unterwarf.

Pflüger machte mit aller Schärfe darauf aufmerksam, daß sämtliche bisher angeführten Gründe, die die Entstehung des Fettes aus Eiweiß beweisen sollen, sich auf ganz schwachen Boden stützen und keiner von ihnen absolut beweiskräftig ist. Diese unerwartete Aufdeckung Pflügers ließ die alten Zweifel wieder aufleben. Wie zu erwarten war, entspann sich zwischen Pflüger einerseits und E. Voit[3]) und M. Cremer[4]) andererseits über die fragliche Voitsche Lehre eine Reihe von Diskussionen, die nicht zur definitiven Entscheidung gelangten. Pflügers Unternehmen ist indessen nicht erfolglos geblieben, denn es folgte seitdem, durch seine Kritik veranlaßt, eine nicht geringe Anzahl von wichtigen Publikationen, die die Herkunft des Fettes im Tierkörper betrafen. Im folgenden führe ich eine der wichtigen Arbeiten darüber in gedrängter Kürze an.

---

[1]) H. Leo, Fettbildung und Fetttransport bei Phosphorintoxikation. Zeitschr. f. physiol. Chem. 9, 269.

[2]) E. Pflüger, Über die Entstehung von Fett aus Eiweiß im Körper der Tiere. Arch. f. d. ges. Physiol. 51.

[3]) E. Voit, Über die Fettbildung aus Eiweiß. Münch. med. Wochenschr. 39, Nr. 26, 460.

[4]) M. Cremer, Fettbildung aus Eiweiß bei der Katze. Münch. med. Wochenschr. 1897, Nr. 29. — Zeitschr. f. Biol. 38, 1899.

Von 1893 ab hat sich unter anderen G. Rosenfeld[1]) eifrig mit dieser Frage beschäftigt. Derselbe vertritt ganz den Standpunkt von Lebedeff. Von ihm wurde die Lehre des Fetttransportes auf Grund vieler Tierversuche erweitert und unsere Kenntnis über Fettablagerung und Fettverteilung im Tierorganismus wesentlich bereichert. Hunde, die nach langem Fasten mit Hammelfett gefüttert werden, setzen überall im Körper Hammelfett ab. Daß das Nahrungsfett auf diese Weise im Körper der Tiere zur Ablagerung gebracht werden kann, ist allerdings vor Rosenfeld durch Fr. Hoffmann[2]), Radziejewsky[3]), J. Munk[4]) und Lebedeff bereits erwiesen worden. Die auf die obige Weise erzielten sogenannten Hammelfetthunde nach Rosenfeld geben nach abermaligem kurzen Fasten zuerst das Fett der Leber ab. Wurden nun so vorbereitete Tiere mit Phlorizin, Phosphor, Arsen, Chloroform, Alkohol, Oleum Pulegii usw. vergiftet, so wandert das Hammelfett von den Unterhautdepots nach der Leber hin. Es entsteht so Hammelfettleber. Gleichzeitig aber verschwindet das Glykogen in der Leber. Fett und Glykogen in der Leber wirken nach Rosenfeld antagonistisch. Werden Tieren mit Fettleber Glykogenbildner gegeben, so verschwindet das Fett in der Leber, statt dessen häuft sich das Glykogen in der Leber an. Allerdings soll die Phosphorfettleber in dieser Hinsicht insofern eine Ausnahmestellung einnehmen, da es Rosenfeld nicht gelang, die Phosphorfettleber durch Glykogenbildner zu beseitigen. Aus der antagonistischen Wirkung von Fett und Glykogen in der Leber erklärt Rosenfeld die Verteilung der physiologischen Fettablagerung der Art, daß sich das Fett bei Ernährung mit Fleisch und Fett zuerst in der Leber ablagert, daß dagegen bei der kohlenhydrathaltigen Nahrung die Fettablagerung regelmäßig in der Reihenfolge von Unterhaut, Bauchfellfalte und Leber erfolgt. Sehr interessant ist ferner die Beobachtung von Rosenfeld, daß die Hammelfetthündin, wenn sie Junge wirft, eine Milch mit Hammelfett produziert. Die Natur des Tierfettes wird nach Rosenfeld nur durch Nahrungsfett bestimmt und man hat im Tierreich keine absolute Spezifität des Fettes. So sah Rosenfeld das Körperfett

[1]) G. Rosenfeld, Über Phlorizinwirkung. Verhdl. d. 12. Kongr. f. inn. Med. 1893. — Über Fettwanderung. Verhdl. d. 13. Kongr. f. inn. Med. 1895. — Fettleber bei Phlorizindiabetes. Zeitschr. f. klin. Med. 28. — Gibt es eine fettige Degeneration? Verhdl. d. 15. Kongr. f. inn. Med. 1897. — Die Herkunft des Fettes. Verhdl. d. 17. Kongr. f. inn. Med. 1899. — Fettbildung. Ergebn. d. Physiol. 1, 1, 1902. — Fettbildung. Ergebn. d. Physiol. 2, 1, 1903. — Ich war leider nicht imstande, in den Besitz der Originalarbeiten von Rosenfeld, die zum großen Teil in der „Allgem. med. Zentral-Ztg." publiziert worden sind, zu gelangen.

[2]) Fr. Hoffmann, Der Übergang von Nahrungsfett in die Zellen des Tierkörpers. Zeitschr. f. Biol. 8, 1874.

[3]) Radziejewsky, Virchows Arch. 56.

[4]) J. Munk, Zur Lehre von der Resorption, Bildung und Ablagerung der Fette im Tierkörper. Virchows Arch. 95, 1884.

eines mit Kuhmilch ernährten Kaninchens aus festem Fett bestehen, während das Fett eines mit Hafer gefütterten Kaninchens bei Zimmertemperatur flüssig bleibt.

In rein physiologischer Hinsicht sind die Resultate der Fütterungsversuche von Kumagawa und G. Kaneda[1]) (1894) an Hunden mit Fleisch dahin ausgefallen, daß im Tierkörper kein Fett aus Eiweiß entsteht.

Athanasiu[2]) (1899) bestimmte den Fettgehalt von 124 Fröschen, von denen 50 zur Kontrolle dienten und die übrigen 74 mit Phosphor vergiftet worden sind. Athanasiu fand bei den Phosphortieren eine Vermehrung des Leberfettes, während die Gesamtfettmenge bei beiden Tieren, auf Gewichtseinheit berechnet, fast ganz dieselbe blieb. Hieraus zog Athanasiu den Schluß, daß bei der Phosphorvergiftung wohl ein Fetttransport nach der Leber hin, aber keine Fettneubildung stattfindet.

Fr. Kraus und A. Sommer[3]) vergifteten von den mit Brot und Speck ernährten Mäusen eine Gruppe mit Phosphor und verglichen die Menge des Gesamt- sowie Leberfettes mit derjenigen der nicht vergifteten. Obwohl die Gesamtfettmenge bei den Phosphortieren stark abnahm, fanden die Autoren eine beträchtliche Zunahme des Leberfettes bei denselben. Daraus wurde der Schluß gezogen, daß bei den mit Brot ernährten Tieren durch die Phosphorvergiftung eine starke Fettzersetzung und zugleich ein Fetttransport vor sich ging, daß jedoch keine Fettneubildung stattfand.

Leick und Winckler[4]) (1902) bestimmten die Jodzahl des Fettes von Herzfleisch, Unterhautgewebe, Nierenkapsel und Pericardium teils bei normalen und teils bei mit Phosphor vergifteten Hunden und Hammeln. Darunter befanden sich auch solche Hunde, die vor der Phosphorvergiftung mit Hammelfett gefüttert worden sind. Die beiden Autoren gelangten dabei zu dem Resultat, daß bei der Phosphorvergiftung eine Fettwanderung von den Unterhautdepots nach dem Herz stattfand.

J. Barro[5]) (1902) bestimmte von zahlreichen, teils normalen, teils mit Phosphor vergifteten Fröschen, Mäusen und neugeborenen Hunden die Menge der Ätherextrakte, ihre Jodzahl, Verseifungszahl und Säurezahl. Dabei konnte Barro im allgemeinen keine Fettneubildung bei Phosphorvergiftung konstatieren. Die Resultate waren indessen etwas schwankend.

---

[1]) M. Kumagawa und G. Kaneda, Zur Frage der Fettbildung aus Eiweiß im Tierkörper. Mitteil. d. med. Fakultät d. Univ. Tokio 3, Nr. 1, 1894; Malys Jahresber. f. Tierchem. 24, 1894.

[2]) J. Athanasiu, Die Erzeugung von Fett im tierischen Körper unter dem Einflusse von Phosphor. Arch. f. d. ges. Physiol. 74.

[3]) Fr. Kraus und A. Sommer, Über Fettwanderung bei Phosphorvergiftung. Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 2, 1902.

[4]) Leick und Winckler, Die Herkunft des Fettes bei Fettmetamorphose des Herzfleisches. Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 48, 1902.

[5]) J. Barro, Zur Frage von der fettigen Entartung. Inaug.-Diss., Warschau 1902 (russisch).

E. Schwalbe[1]) (1902) gab einem Hunde Jodipin per os oder subcutan und konnte im Fett von Mesenterium und Peritoneum Jod nachweisen, dagegen im Leberfett nicht. Wurden nun Tiere mit Phosphor vergiftet, so erschien Jod im Leberfett. Hieraus schließt Schwalbe, daß eine Fettwanderung im Sinne von Rosenfeld bei Phosphorvergiftung stattfindet. Dagegen konnte H. Gideon Wells[2]) (1905) bei Kaninchen nach subcutaner Einverleibung von Jodipin durch Phosphorvergiftung keine sichere Jodreaktion in der Leber und Niere nachweisen. Doch schließt Gideon die Möglichkeit einer Fettwanderung aus seinen Versuchen nicht aus.

Im vorhergehenden habe ich nur diejenigen Arbeiten kurz aufgezählt, die seit dem Bekanntwerden der Pflügerschen Kritik erschienen und deren Resultate im Sinne der neuen Anschauung ausgefallen sind. Es haben indessen in diesem Zeitabschnitte auch diejenigen Stimmen nicht gefehlt, die die Voitsche Lehre verteidigten. Außer den oben zitierten Publikationen von E. Voit und M. Cremer nimmt M. Kaufmann[3]) (1896) auf Grund seiner respiratorischen und calorimetrischen Versuche nach Chauveauschem Prinzip an Hunden bei verschiedener Nahrung die Fettbildung aus Eiweiß als ganz normalen Vorgang an, allerdings unter vielen Annahmewerten.

O. Polimanti[4]) (1898) vergiftete eine Anzahl Frösche mit Phosphor, verglich den Fettgehalt derselben mit denjenigen der nicht vergifteten Tiere und fand bei den Phosphortieren etwas mehr Fett. Hieraus zog Polimanti den Schluß, daß das Fett bei der Phosphorvergiftung aus Eiweiß entsteht. Die Richtigkeit der Polimantischen Schlußfolgerungen wurde jedoch von Pflüger stark angezweifelt.

W. Lindemann[5]) (1899) schließt auf Grund der von ihm nachgewiesenen verschiedenen Zusammensetzung des Fettes zwischen normalem und degenerativem Herzmuskel die Möglichkeit eines Fetttransports aus, indem er davon ausgeht, daß die Natur des Fettes in beiden Fällen doch gleich sein müsse, wenn bei einem degenerativem Prozesse das normale Fett von anderswoher in die Herzmuskulatur einwandern sollte.

---

[1]) E. Schwalbe, Über Fettwanderung bei Phosphorvergiftung. Verhdl. d. Deutsch. pathol. Ges. in Kassel, 1903.

[2]) H. Gideon Wells, Versuche über den Transport jodierten Fettes bei Phosphorvergiftung. Zeitschr. f. physiol. Chem. 45, 1905.

[3]) M. Kaufmann, Über den Ursprung und die Bildungsweise des Fettes im tierischen Organismus. — Neue Untersuchungen über die Umwandlung der Albuminstoffe zu Fett im tierischen Organismus. Malys Jahresber. über Tierchem. 26; Arch. f. d. ges. Physiol. 28, 1896.

[4]) O. Polimanti, Über die Bildung von Fett im Organismus nach Phosphorvergiftung. Arch. f. d. ges. Physiol. 70, 1898.

[5]) W. Lindemann, Über das Fett des normalen und des entarteten Herzmuskels. Diese Zeitschr. 38, 1899.

W. Woltke[1]) (1901) fütterte Kontrollhunde mit Leinöl und fand eine Steigerung der Jodzahl des Fettes in dem Unterhautgewebe, Eingeweide und Leber (100 bis 116). Die mit Phosphor vergifteten Versuchshunde, die ebenfalls vorher mit Leinöl gefüttert worden waren, besaßen dagegen in den inneren Organen (Leber, Herz und Niere) ein Fett, dessen Jodzahl bedeutend niedriger war (63 bis 65). Hieraus schließt Woltke, daß bei der Posphorvergiftung durchaus kein Fetttransport stattfindet. Doch darf man auf die Woltkeschen Versuche kein großes Gewicht legen, denn Woltke zählte z. B. unter hungernden Hunden ohne vorhergehende Leinölfütterung auch solche mit einer sehr hohen Jodzahl des Leberfettes bei der Phosphorvergiftung (122!). Ferner fand Woltke bei hungernden Hunden mit Phosphorvergiftung einen größeren Leberfettgehalt (15%) als denjenigen der ebenfalls hungernden Tiere ohne Phosphorvergiftung (9%), dagegen einen niedrigeren Muskelfettgehalt (2%) bei vergifteten als denjenigen der nicht vergifteten (4%). Bei dieser Sachlage läßt sich auch gerade auf das Gegenteil von dem schließen, was Woltke behauptet.

Nach dem Angeführten erscheint uns die Richtigkeit der Lehre von dem Fetttransport in der Tat nicht mehr zweifelhaft, und die alte Lehre von der Entstehung des Fettes aus Eiweiß im Tierorganismus müßte als unhaltbar verworfen werden. Allein alle bisherigen Untersuchungen, die die Herkunft des Fettes im Organismus betrafen, leiden daran, daß die Methoden der Fettbestimmung, die zur Entscheidung der gestellten Frage fundamentale Bedeutung haben, durch die neuere Untersuchung von M. Kumagawa und K. Suto[2]) als nicht einwandfrei erwiesen worden sind. Da die definitive Entscheidung der Fettbildungsfragen sowohl in der Physiologie wie in der Pathologie von eminenter Tragweite ist, so erschien es uns sehr wünschenswert, die Richtigkeit der einen oder der anderen Lehre mittels einwandfreier Methode nochmals zu prüfen. Auf Grund dieser Erwägung habe ich auf Veranlassung und unter Leitung von Prof. M. Kumagawa diese Experimente von neuem in Angriff genommen, indem ich alle Fettbestimmungen nach der Kumagawa-Sutoschen Verseifungsmethode ausführte.

Anordnung der Versuche.

Ich habe die Versuche teils an Fröschen, teils an Tanzmäusen angestellt. Sowohl bei den Frosch- wie bei den Mäuseversuchen

[1]) W. Woltke, Über die Veränderungen des Fettes infolge der Phosphorvergiftung. Inaug.-Diss., Moskau. Malys Jahresber. 31, 1901.

[2]) M. Kumagawa und K. Suto, Ein neues Verfahren zur quantitativen Bestimmung des Fettes usw. Diese Zeitschr. 8, 1908.

habe ich bei einer Anzahl von Tieren mit oder ohne Phosphorvergiftung die Menge von Stickstoff und Fett in den Lebern und in den entleberten Körpern getrennt bestimmt. Aus dem prozentischen Vergleich von Stickstoff und Fett (auf das feuchte Körper- resp. Lebergewicht berechnet) läßt sich schließen, wie sich die Menge und Verteilung von Stickstoff und Fett bei der Phosphorvergiftung ändert. Nur in den letzten Mäuseversuchen mit Brotfütterung sind alle Trockenbestimmungen ausgeführt worden. Die Froschversuche zeigen insofern Nachteile, weil man wegen des trägen Stoffwechsels der Tiere nicht imstande ist, einen scharfen Unterschied zwischen Ernährung und Inanition zu ziehen. Nachteilig ist ferner der Umstand, daß sich die bei diesen Kaltblütern gewonnenen Resultate schwerlich ohne weiteres auf die Säugetiere übertragen ließen. Daher habe ich die meisten Versuche an Tanzmäusen angestellt. Diese kleinen Säuger habe ich absichtlich zu meinen Versuchen herangezogen, weil die Feststellung der Gesamtfettmenge sich bei den kleinen Tieren viel bequemer ganz exakt ausführen läßt als bei größeren Tieren. Die Phosphorvergiftung wurde bei diesen Tieren in verschiedenen Stadien der Inanition sowie bei Brotfütterung ausgeführt. Einen ganz sicheren Nachweis für die Wanderung des Unterhautfettes nach der Leber hin konnte ich bei diesen Tieren durch die Lebertraninjektion und darauffolgende Phosphorvergiftung im Hungerzustande erbringen. Eine starke Zersetzung des Fettes infolge der Phosphorvergiftung bei gleichzeitiger Kohlenhydratzufuhr konnte ich ebenfalls feststellen, wie dies Kraus-Sommer hervorhob.

Gang der Untersuchung.

Von einer Anzahl getöter resp. gestorbener Tiere wurden die Gewichte festgestellt, dann die Lebern schnell herauspräpariert, in toto gewogen, fein zerhackt und gut durchgemischt. Die entleberten Leichen (im folgenden einfach Leichen genannt) wurden genau ebenso behandelt. Sowohl der Leichen- wie Leberbrei wurde genau in zwei gleiche Teile geteilt. Je eine Hälfte diente zur Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl und je eine Hälfte zur Fettbestimmung nach Kumagawa-Suto. Die beiden Leberhälften wurden wegen der kleineren Masse direkt auf Stickstoff- resp. Fettbestimmung verarbeitet. Von den Leichen wurde die Bestimmung wegen der größeren Masse folgendermaßen ausgeführt.

Stickstoffbestimmung. Die eine Leichenhälfte wurde in einem großen Kjeldahl-Rundkolben mit konzentrierter Schwefelsäure auf dem Sandbade soweit oxydiert, bis die ganze Masse eine allerdings noch stark gefärbte, doch homogene Lösung bildete. Alsdann wurde diese dunkelbraune Lösung nach dem Erkalten in einen Meßkolben hineingebracht, mit konzentrierter Schwefelsäure ausgespült, schließlich mit der Säure bis zur Marke aufgefüllt und gut durchgemischt. Aliquote Teile davon wurden abpipettiert, unter Zusatz von Kalium- und Kupfersulfat bis zur Farblosigkeit vollständig verbrannt und weiter, wie üblich, verarbeitet.

Fettbestimmung. Die andere Hälfte des Leichenbreis wurde in einem Becherglas mit dem 5fachem Volum 25 g/dl iger[1]) Natronlauge im Dampfbade vollständig verseift (hierzu sind 3 bis 4 Stunden erforderlich). Nach guter Kühlung wurde die ganze Masse im Meßkolben mit Lauge bis zur Marke aufgefüllt und gut gemischt. Hiervon wurden aliquote Teile abpipettiert und weiter nach Kumagawa-Suto verarbeitet. Ich bemerke hier gleich, daß als Fette überall die Menge der gereinigten Petroläther-extrakte nach der Verseifung bezeichnet ist, die die Summe von hochmolekularen Fettsäuren und unverseifbaren Substanzen darstellt, weil die Menge der letzteren ganz unbedeutend ist und die Isolierung derselben viel Zeit in Anspruch nimmt.

Herstellung und Einverleibung der Phosphoremulsion. Öl kann hier aus leicht ersichtlichen Gründen zur Herstellung der Phosphoremulsion nicht verwendet werden. Daher bereitete Leo bei seinen Versuchen Phosphoremulsion durch heißes Wasser. Dies ist insofern nicht praktisch, weil die Phosphorpartikelchen beim Abkühlen leicht zu Boden sinken. Barro führte Phosphorstückchen direkt in den Lymphsack oder per os ein. Athanasiu sowie Polimanti bereiteten Phosphoremulsion mittels eines Gummischleims. Um die Kohlenhydratzufuhr hierbei zu vermeiden, habe ich vergeblich nach anderen Mitteln gesucht. Dem Rate von Prof. Suto folgend, konnte ich schließlich eine dauerhafte Emulsion auf folgende Weise leicht herstellen: Eine mit etwa dem gleichen Volum Wasser verdünnte Hühnereiweißlösung wird in einem Reagensglas mit Phosphorstückchen versetzt und ins

[1]) 25 g/dl = 25 g in 1 Deziliter (= 100 ccm) nach Suto.

kochende Wasser getaucht. Sobald die Eiweißlösung an der Oberfläche zu koagulieren beginnt, wird das Reagensglas schnell herausgenommen und tüchtig geschüttelt, indem man dasselbe inzwischen ein paarmal ins kalte Wasser taucht. Trennt man dann die Flüssigkeit von dem etwa gröbere Partikelchen enthaltenden Schaum durch Abgießen, so bekommt man eine dauerhafte Emulsion mit nur geringer Bodensatzbildung nach langem Stehen. Auf diese Weise wurde eine ca. 1%ige Phosphoremulsion bereitet. Die Einverleibung dieser Emulsion geschah nach dem Vorgang von Leo per anus in den Darm. Hierzu benutzte ich ein zweckmäßig gebogenes, dickwandiges Capillarröhrchen mit einer kugligen Erweiterung an einer Stelle und mit einer Marke hinter derselben. Hiermit wurden jedesmal 0,2 ccm der Emulsion (= 0,002 g P) durch Druck auf das mit einem Ende des Röhrchens in Verbindung gesetzte Gummibällchen in den Darm entleert.

Nach diesen allgemeinen Bemerkungen gehe ich nunmehr zu den einzelnen Versuchen über, die von Anfang Februar 1910 bis Ende Juni 1911 angestellt worden sind.

Froschversuche.

Etwa 50 Frösche (Rana esculenta) wurden in einem geräumigen, mit Wasser versorgten Kasten aufbewahrt. Hiervon dienten je 8 Frösche zu einem Versuche, indem dieselben gut ausgewaschen, abgewischt und bis auf 0,01 g genau abgewogen wurden. Die Kontrolltiere wurden direkt getötet. Die Versuchstiere wurden nach der Phosphorvergiftung in einem besonderen Gefäße bis zum Tode getrennt aufbewahrt, damit der Stickstoff im Abwasser nach dem Tode der Tiere auch bestimmt werden konnte.

Froschversuche I A.

Kontrollversuche. Die Tiere wurden auf die Weise getötet, daß die Nackenteile mit einer Schere durchschnitten wurden. Die einzelnen Daten sind in der Tabelle verzeichnet.

Art und Zahl der Tiere	Totalgewicht	Leichengewicht[1])	Lebergewicht	Gesamtstickstoff	Leichenstickstoff	Leberstickstoff	Gesamtfett	Leichenfett	Leberfett
8 Frösche	120,7 g	117,1g	3,6 g	2,84 g	2,79 g	0,053 g	2,72 g	2,55 g	0,17 g
Prozentische Werte, auf wasserhaltiges Material berechnet				2,35%	2,38%	1,47%	2,26%	2,18%	4,67%

[1]) Der Abkürzung halber wurde Gesamtkörper minus Leber überall einfach als Leiche bezeichnet.

Stickstoff- und Fettverteilung in der Leiche und Leber.

	Absolute Menge g	Prozentischer Vergleich		Absolute Menge g	Prozentischer Vergleich
Gesamtstickstoff	2,84	100	Gesamtfett	2,72	100
Leichenstickstoff	2,79	98,1	Leichenfett	2,55	93,7
Leberstickstoff	0,05	1,9	Leberfett	0,17	6,3

Froschversuche I B.

Eigentliche Versuche mit Phosphorvergiftung. Jedes Tier bekam je 0,2 ccm Phosphoremulsion per anus. Der Tod ist 2 Tage nach der P-Einverleibung eingetreten. Das Gewicht der Tiere betrug vor der P-Einverleibung in toto 140,7 g. Die Gewichtsabnahme betrug beim Tode 6,1 % des anfänglichen Wertes.

Art und Zahl der Tiere	Totalgewicht	Leichengewicht	Lebergewicht	Gesamtstickstoff	Leichenstickstoff	Leberstickstoff	Gesamtfett	Leichenfett	Leberfett
8 Frösche	132,1 g	125,6g	6,5 g	2,87 g	2,81 g	0,054 g	2,557 g	2,167 g	0,390 g
Prozentische Werte, auf wasserhaltiges Material berechnet				2,17 %	2,24 %	0,84 %	1,94 %	1,73 %	6,04 %

(Der Stickstoff im Ab- und Waschwasser nach der Vergiftung betrug in toto 0,0238 g. Dieser Wert wurde auch im Gesamtstickstoff mitberechnet.)

Stickstoff- und Fettverteilung in der Leiche und Leber.

	Absolute Menge g	Prozentischer Vergleich		Absolute Menge g	Prozentischer Vergleich
Gesamtstickstoff	2,868	100	Gesamtfett	2,557	100
Leichenstickstoff	2,814	98,1	Leichenfett	2,167	84,7
Leberstickstoff	0,044	1,9	Leberfett	0,390	15,3

Übersichtstabelle der Stickstoff- und Fettverteilung in den Froschversuchen I A und B.

Art der Versuche	In Proz. der feuchten Materialien						Verteilung in Proz. des Gesamtstickstoffs und Gesamtfettes			
	Gesamtstickstoff	Leichenstickstoff	Leberstickstoff	Gesamtfett	Leichenfett	Leberfett	Leichenstickstoff	Leberstickstoff	Leichenfett	Leberfett
Kontrollversuche .	2,35	2,38	1,47	2,26	2,18	4,69	98,1	1,9	93,7	6,31
Phosphorvergiftung	2,17	2,24	0,84	1,94	1,73	6,04	98,1	1,9	84,7	15,3

Zum besseren Vergleich habe ich im folgenden die prozentischen Werte von Gesamtstickstoff, Gesamtfett, Leberstickstoff und Leberfett

bei Kontrolltieren = 100 gesetzt und die entsprechenden Werte der Phosphortiere hierzu nochmals prozentisch ausgerechnet:

	Gesamt-N %	Gesamtfett %	Leber-N %	Leberfett %
Kontrolltiere	100	100	100	100
Phosphortiere . . .	92,3	82,1	57,3	128,8
Differenz	−7,7	−17,9	−42,7	+28,8

Demnach fand bei diesen Versuchen infolge der P-Vergiftung eine Abnahme vom Gesamtfett um 18% bei gleichzeitiger Abnahme vom Gesamtstickstoff um 7,7% statt. Trotzdem fand eine Zunahme des Leberfettes um 29% bei gleichzeitiger Abnahme des Leberstickstoffes um 43% statt. Diese starke prozentische Abnahme von Leberstickstoff läßt sich teilweise dadurch erklären, daß das Lebergewicht bei P-Tieren infolge der Fettaufnahme beträchtlich zugenommen hat. Das Lebergewicht betrug nämlich bei P-Tieren 6,463 g gegenüber 3,636 g bei Kontrolltieren. Da bei der P-Vergiftung trotz starker Abnahme des Gesamtfettes eine beträchtliche Zunahme des Leberfettes stattgefunden hat, so kann wohl kein anderer Schluß gezogen werden, als daß hier eine Wanderung des Fettes nach der Leber hin stattgefunden hat. Für eine Neubildung des Fettes aus Eiweiß hat man keinen Stützpunkt, weil das Gesamtfett eben stark abgenommen hat. Eine beträchtliche Abnahme des Leberstickstoffs ist allerdings zum Teil etwas unerklärlich. Das Eiweiß selber könnte infolge der P-Vergiftung tatsächlich noch stärker zerfallen sein. Darüber geben indessen unsere Versuchsanordnungen keinen Aufschluß, weil man nicht weiß, in welchem Verhältnis sich der Stickstoff auf Eiweiß und seine Zersetzungsprodukte verteilt.

Froschversuche II A.

Kontrollversuche. Genaue Wiederholung von I A.

Art und Zahl der Tiere	Totalgewicht	Leichengewicht	Lebergewicht	Gesamtstickstoff	Leichenstickstoff	Leberstickstoff	Gesamtfett	Leichenfett	Leberfett
8 Frösche	138,2 g	133,9 g	4,3 g	3,491 g	3,446 g	0,045 g	3,396 g	3,264 g	0,132 g
Prozentische Werte, auf wasserhaltiges Material berechnet				2,523%	2,474%	1,025%	2,456%	2,437%	3,054%

Stickstoff- und Fettverteilung in der Leiche und Leber.

	Absolute Menge g	Prozentischer Vergleich		Absolute Menge g	Prozentischer Vergleich
Gesamtstickstoff	3,491	100	Gesamtfett	3,396	100
Leichenstickstoff	3,446	98,8	Leichenfett	3,264	96,1
Leberstickstoff	0,045	1,2	Leberfett	0,132	3,9

Froschversuche II B.

Eigentliche Versuche mit Phosphorvergiftung. Jedes Tier bekam je 0,2 ccm Phosphoremulsion per anus. 2 Tage nach der P-Einverleibung ist der Tod eingetreten. Das Gewicht der Tiere betrug vor der P-Einverleibung in toto 154,9 g. Die Gewichtsabnahme betrug beim Tode 6,1 % des anfänglichen Wertes.

Art und Zahl der Tiere	Totalgewicht	Leichengewicht	Lebergewicht	Gesamtstickstoff	Leichenstickstoff	Leberstickstoff	Gesamtfett	Leichenfett	Leberfett
8 Frösche	145,5 g	140,1 g	5,4 g	3,338 g	3,296 g	0,042 g	1,795 g	1,579 g	0,216 g
Prozentische Werte, auf wasserhaltiges Material berechnet				2,294 %	2,353 %	0,77 %	1,234 %	1,127 %	3,999 %

(Der Stickstoff im Ab- und Waschwasser nach der Vergiftung betrug in toto 0,048 g. Dieser Wert wurde auch im Gesamtstickstoff mitberechnet.)

Stickstoff- und Fettverteilung in der Leiche und Leber.

	Absolute Menge g	Prozentischer Vergleich		Absolute Menge g	Prozentischer Vergleich
Gesamtstickstoff	3,338	100	Gesamtfett	1,795	100
Leichenstickstoff	2,296	98,8	Leichenfett	1,579	87,9
Leberstickstoff	0,0416	1,2	Leberfett	0,216	12,1

Übersichtstabelle der Stickstoff- und Fettverteilung in den Froschversuchen II A und B.

Art der Versuche	In Proz. der feuchten Materialien						Verteilung in Proz. des Gesamtstickstoffs und Gesamtfettes			
	Gesamtstickstoff	Leichenstickstoff	Leberstickstoff	Gesamtfett	Leichenfett	Leberfett	Leichenstickstoff	Leberstickstoff	Leichenfett	Leberfett
Kontrollversuche .	2,523	2,474	1,025	2,456	2,437	3,054	98,7	1,3	96,1	3,9
Phosphorvergiftung	2,294	2,353	0,770	1,234	1,113	3,999	98,6	1,4	87,9	12,1

Ich habe im folgenden wiederum die prozentischen Werte von Stickstoff und Fett bei den Kontrolltieren = 100 gesetzt und die hierzu entsprechenden Werte bei P-Tieren prozentisch in Vergleich gestellt:

	Gesamt-N %	Gesamtfett %	Leber-N %	Leberfett %
Kontrolltiere	100	100	100	100
Phosphortiere . . .	87,0	50,2	75,2	131,0
Differenz	− 13,0	− 49,8	− 24,8	+ 31,0

Die Resultate dieser Versuche stimmen mit denjenigen der vorhergehenden vollkommen überein. Nur ist die Möglichkeit der Fettwanderung hier noch deutlicher zutage getreten. Es fand nämlich hier eine Abnahme des Gesamtfettes um 50% und eine Zunahme des Leberfettes um 31% mit gleichzeitiger Abnahme des Gesamtstickstoffs um 13% und des Leberstickstoffs um 25% statt.

Diese von mir festgestellte starke Herabsetzung des Gesamtfettes, die im Organismus der Frösche durch die P-Vergiftung hervorgerufen wird, steht mit den Resultaten der bisherigen Versuche von J. Athanasiu sowie von O. Polimanti in auffallendem Widerspruche. Die beiden Autoren haben nämlich bei ihren P-Tieren eine geringe Vermehrung der Ätherextrakte gefunden. Sie haben indessen zu ihrer Fettbestimmung ausschließlich die Verdauungsmethode von Pflüger-Dormeyer benutzt. Es ist nun eine bekannte Tatsache, daß bei der P-Vergiftung außer noch unbekannten ätherlöslichen Stickstoffverbindungen eine starke Zunahme von Milchsäure stattfindet. Daß man andererseits bei der Verdauungsmethode von Pflüger-Dormeyer Milchsäure und noch unbekannte ätherlösliche Verunreinigungen als Fett mitbestimmt, ist von Kumagawa-Suto längst erwiesen worden. Demnach halte ich es für berechtigt, auszusprechen, daß jener auffallende Widerspruch in bezug auf den Fettgehalt der P-Tiere ganz ungezwungen auf die Benutzung der mangelhaften Fettbestimmungsmethoden von Athanasiu und Polimanti zurückzuführen ist. In bezug auf den N-Stoffwechsel konnte Athanasiu bei P-Vergiftung keine nennenswerte Veränderung der Stickstoffmenge konstatieren, während bei meinen P-Tieren ein Stickstoffverlust von 7,7 bis 13% im ganzen stattfand. Worauf dieser Unterschied zurückzuführen sei, lasse ich einstweilen dahingestellt. Somit komme ich auf Grund der angeführten Versuche zu den folgenden Schlußfolgerungen: Im Organismus der Frösche ist eine Fettneubildung aus Eiweiß infolge der P-Vergiftung ganz auszuschließen, weil eine starke Herabsetzung des Gesamtfettes infolge der P-Vergiftung stattfindet. Gleichzeitig findet allerdings ein mäßiger Eiweißverlust durch die P-Vergiftung statt, aus dem man indessen durchaus keinen Stützpunkt zur Fettneubildung gewinnt. Dagegen findet infolge der P-Vergiftung

eine unverkennbare Fettwanderung nach der Leber hin statt, indem sich das Leberfett im Mittel um 30% des normalen Wertes vermehrt, trotzdem das Gesamtfett um 18 bis 50% abgenommen hat. Von welchem Gewebe das Fett, das bei der P-Vergiftung nach der Leber hin wandert, herabfließt, darüber geben indessen diese Versuche keinen Aufschluß. Diese Frage wird erst durch die weiter folgenden Mäuseversuche beantwortet.

Mäuseversuche.

Da es mir etwas bedenklich erschien, die obigen bei den Kaltblütern gewonnenen Resultate der Giftwirkung ohne weiteres auf die Säugetiere zu übertragen, so habe ich diese Fragen im folgenden an Tanzmäusen (Komanezumi) noch eingehender geprüft. Bei den Säugetieren gestaltet sich die Erforschung des Problems insofern viel komplizierter als bei den Fröschen, weil man von vornherein darauf Rücksicht zu nehmen hat, daß die Wirkung des Giftes auf den Stoffwechsel der Säugetiere zwischen Ernährung und Hunger einen wesentlichen Unterschied aufweisen würde. Deshalb habe ich im folgenden zunächst die Stickstoff- und Fettverteilung der normal ernährten Tiere mit derjenigen der einfach hungernden sowie der im Laufe der Inanition mit Phosphor vergifteten in Vergleich gestellt. Alsdann bin ich zu dem Vergleiche der normal ernährten mit oder ohne P-Vergiftung geschritten.

Von einer großen Anzahl von Tanzmäusen wurden Männchen und Weibchen isoliert und die beiden Gruppen getrennt mit Reis und Gemüse ernährt Hiervon wurde in allen Versuchen, in denen ich zwei Mäuse zu einem Versuche verwendet habe, stets ein Paar von je einem Männchen und Weibchen benutzt. Die einzelnen Daten sind im folgenden verzeichnet.

Mäuseversuche I A.

Kontrollversuche. Die mit Reis und Gemüse ernährten Tiere wurden durch Kopfschlag getötet.

Art und Zahl der Tiere	Totalgewicht	Leichengewicht	Lebergewicht	Gesamtstickstoff	Leichenstickstoff	Leberstickstoff	Gesamtfett	Leichenfett	Leberfett
2 Mäuse	31,6 g	29,7 g	1,9 g	0,92 g	0,853 g	0,07 g	4,40 g	4,30 g	0,1 g
Prozentische Werte, auf wasserhaltiges Material berechnet				2,92%	2,87%	3,58%	13,92%	14,47%	5,2%

Stickstoff- und Fettverteilung in der Leiche und Leber.

	Absolute Menge g	Prozentischer Vergleich		Absolute Menge g	Prozentischer Vergleich
Gesamtstickstoff	0,922	100	Gesamtfett	4,4	100
Leichenstickstoff	0,853	92,5	Leichenfett	4,3	97,7
Leberstickstoff	0,069	7,5	Leberfett	0,1	2,3

Mäuseversuche I B.

Inanition a. Die Mäuse wurden nach 2tägiger Inanition getötet. Sie wogen vor der Inanition 22,12 g. Die Gewichtsabnahme betrug 16,6 %.

Art und Zahl der Tiere	Totalgewicht	Leichengewicht	Lebergewicht	Gesamtstickstoff	Leichenstickstoff	Leberstickstoff	Gesamtfett	Leichenfett	Leberfett
2 Mäuse	18,45 g	17,54 g	0,907 g	0,463 g	0,432 g	0,0308 g	2,418 g	2,377 g	0,041 g
Prozentische Werte, auf wasserhaltiges Material berechnet				2,51 %	2,465 %	3,4 %	13,10 %	13,55 %	4,48 %

Stickstoff- und Fettverteilung in der Leiche und Leber.

	Absolute Menge g	Prozentischer Vergleich		Absolute Menge g	Prozentischer Vergleich
Gesamtstickstoff	0,463	100	Gesamtfett	2,418	100
Leichenstickstoff	0,432	93,3	Leichenfett	2,377	98,3
Leberstickstoff	0,031	6,7	Leberfett	0,041	1,7

Mäuseversuche I C.

Inanition b. Die Tiere mit 28,769 g Körpergewicht hatten 4 Tage gehungert. Sie werden am Morgen desselben Tages getötet. Die Gewichtsabnahme betrug 26,3 %.

Art und Zahl der Tiere	Totalgewicht	Leichengewicht	Lebergewicht	Gesamtstickstoff	Leichenstickstoff	Leberstickstoff	Gesamtfett	Leichenfett	Leberfett
2 Mäuse	21,2 g	20,2 g	1,0 g	0,52 g	0,49 g	0,031 g	1,83 g	1,79 g	0,04 g
Prozentische Werte, auf wasserhaltiges Material berechnet				2,46 %	2,43 %	3,12 %	8,64 %	8,87 %	4,08 %

Stickstoff- und Fettverteilung in der Leiche und Leber.

	Absolute Menge g	Prozentischer Vergleich		Absolute Menge g	Prozentischer Vergleich
Gesamtstickstoff	0,521	100	Gesamtfett	1,83	100
Leichenstickstoff	0,490	94,1	Leichenfett	1,79	97,8
Leberstickstoff	0,031	5,9	Leberfett	0,04	2,2

Mäuseversuch I D.

Eigentliche Versuche mit Phosphorvergiftung. Die Tiere mit 28,45 g Körpergewicht hatten 2 Tage gehungert, dann bekam jedes Tier je 0,2 ccm P-Emulsion per anus. Die Inanition wurde fortgesetzt. 2 Tage nach der P-Einverleibung ist der Tod eingetreten. Die Tiere wogen am Tage der P-Vergiftung in toto 21,59 g. Die Gewichtsabnahme betrug bis zum Tode in toto 26,2%.

Art und Zahl der Tiere	Totalgewicht	Leichengewicht	Lebergewicht	Gesamtstickstoff	Leichenstickstoff	Leberstickstoff	Gesamtfett	Leichenfett	Leberfett
2 Mäuse	21,0 g	19,3 g	1,30 g	0,501 g	0,464 g	0,037 g	1,87 g	1,78 g	0,088 g
Prozentische Werte, auf wasserhaltiges Material berechnet				2,39%	2,41%	2,87%	8,93%	9,23%	6,8%

Stickstoff- und Fettverteilung in der Leiche und Leber.

	Absolute Menge g	Prozentischer Vergleich		Absolute Menge g	Prozentischer Vergleich
Gesamtstickstoff	0,501	100	Gesamtfett	1,87	100
Leichenstickstoff	0,460	92,6	Leichenfett	1,78	95,3
Leberstickstoff	0,037	7,4	Leberfett	0,083	4,7

Aus der folgenden Tabelle ergibt sich, daß die Resultate der P-Vergiftung bei den Hungermäusen im großen und ganzen fast dieselben sind wie bei den Fröschen. Um den Vergleich noch plausibler zu machen, habe ich wiederum die prozentischen Zahlen von Stickstoff und Fett bei Normaltieren = 100 gesetzt und hierzu die entsprechenden Werte bei Hungertieren mit oder ohne P-Vergiftung nochmals prozentisch ausgerechnet.

Übersichtstabelle der Stickstoff- und Fettverteilung in den Mäuseversuchen I A, B, C und D.

	In Proz. der feuchten Materialien						Verteilung in Proz. des Gesamtstickstoffs und Gesamtfettes			
	Gesamtstickstoff	Leichenstickstoff	Leberstickstoff	Gesamtfett	Leichenfett	Leberfett	Leichenstickstoff	Leberstickstoff	Leichenfett	Leberfett
Versuchsreihe I A (norm. Ernährung)	2,92	2,87	3,58	13,92	14,47	5,2	92,5	7,5	97,7	2,3
Versuchsreihe I B (2tägige Inanition)	2,51	2,47	3,40	13,10	13,6	4,48	93,3	6,7	98,3	1,7
Versuchsreihe I C (4tägige Inanition)	2,46	2,43	3,12	8,64	8,87	4,08	94,1	5,9	97,8	2,2
Versuchsreihe I D (P-Vergiftung im Laufe der 4tägig. Inanition) . . .	2,39	2,41	2,87	8,93	9,23	6,8	92,6	7,4	95,3	4,7

	Gesamt-N %	Gesamtfett %	Leber-N %	Leberfett %
Normale Ernährung (I A)	100	100	100	100
2tägige Inanition (I B) .	86,0	94,1	95,0	86,2
(Differenz von norm. Ernährung)	(— 14,0)	(— 5,9)	(— 5,0)	(— 13,8)
4tägige Inanition (I C) .	84,2	62,1	87,2	78,5
(Differenz von norm. Ernährung)	(— 15,8)	(— 37,9)	(— 12,8)	(— 21,5)
P-Vergiftung bei Inanition (I D)	81,8	64,2	80,2	130,8
(Differenz von norm. Ernährung)	(— 18,2)	(— 35,8)	(— 19,8)	(+ 30,8)

Wie uns ein Blick auf obige Tabelle zeigt, hat sowohl die Menge von Stickstoff wie von Fett im Laufe der Inanition allmählich abgenommen. Während dabei die Menge von Leichen- wie von Leberstickstoff in allen Fällen der Inanition mit oder ohne P-Vergiftung fast parallel mit der Inanitionsdauer abgenommen hat, erfolgte der Gang der Fettabnahme bei der P-Vergiftung wiederum nach ganz anderem Modus. Trotz einer 36%igen Abnahme des Gesamtfettes hat das Leberfett bei der P-Vergiftung im Laufe 4tägiger Inanition um 31% des normalen Wertes zugenommen, was wiederum auf die Fettwanderung nach der Leber hin deutet.

Mäuseversuche IIA.

Kontrollversuche. Die mit Reis und Gemüse ernährten Tiere wurden durch Kopfschlag getötet.

Art und Zahl der Tiere	Totalgewicht	Leichengewicht	Lebergewicht	Gesamtstickstoff	Leichenstickstoff	Leberstickstoff	Gesamtfett	Leichenfett	Leberfett
2 Mäuse	28,16 g	26,39 g	1,77 g	6,787 g	0,718 g	0,069 g	4,081 g	3,976 g	0,105 g
Prozentische Werte, auf wasserhaltiges Material berechnet				2,79%	2,72%	3,86%	14,50%	15,07%	5,903%

Stickstoff- und Fettverteilung in der Leiche und Leber.

	Absolute Menge g	Prozentischer Vergleich		Absolute Menge g	Prozentischer Vergleich
Gesamtstickstoff	0,787	100,0	Gesamtfett	4,081	100,0
Leichenstickstoff	0,718	91,3	Leichenfett	3,976	97,4
Leberstickstoff	0,069	8,7	Leberfett	0,105	2,6

Mäuseversuch IIB.

Reine Inanition a. Die Mäuse wurden nach 2tägiger Inanition getötet. Sie wogen vor der Inanition 24,27 g. Die Gewichtsabnahme betrug 14,3%.

Art und Zahl der Tiere	Totalgewicht	Leichengewicht	Lebergewicht	Gesamtstickstoff	Leichenstickstoff	Leberstickstoff	Gesamtfett	Leichenfett	Leberfett
2 Mäuse	20,80 g	19,61 g	1,19 g	0,561 g	0,52 g	0,041 g	2,704 g	2,646 g	0,058 g
Prozentische Werte, auf wasserhaltiges Material berechnet				2,7%	2,652%	3,453%	13,0%	13,49%	4,89%

Stickstoff- und Fettverteilung in der Leiche und Leber.

	Absolute Menge g	Prozentischer Vergleich		Absolute Menge g	Prozentischer Vergleich
Gesamtstickstoff	0,5609	100,0	Gesamtfett	2,704	100,0
Leichenstickstoff	0,5199	92,7	Leichenfett	2,646	97,8
Leberstickstoff	0,0410	7,3	Leberfett	0,058	2,2

Mäuseversuche IIC.

Reine Inanition b. Die Tiere mit 29,95 g Körpergewicht hatten 4 Tage gehungert. Am Morgen desselben Tages wurden sie getötet. Die Gewichtsabnahme betrug 21,1%.

Art und Zahl der Tiere	Totalgewicht	Leichengewicht	Lebergewicht	Gesamtstickstoff	Leichenstickstoff	Leberstickstoff	Gesamtfett	Leichenfett	Leberfett
2 Mäuse	23,4 g	22,5 g	0,90 g	0,552 g	0,526 g	0,026 g	2,11 g	2,08 g	0,036 g
Prozentische Werte, auf wasserhaltiges Material berechnet				2,36%	2,34%	2,902%	9,03%	9,24%	3,997%

Stickstoff- und Fettverteilung in der Leiche und Leber.

	Absolute Menge g	Prozentischer Vergleich		Absolute Menge g	Prozentischer Vergleich
Gesamtstickstoff	0,552	100,0	Gesamtfett	2,111	100,0
Leichenstickstoff	0,526	95,3	Leichenfett	2,075	98,3
Leberstickstoff	0,026	4,7	Leberfett	0,036	1,7

Mäuseversuche IID.

Eigentliche Versuche mit Phosphorvergiftung. Die Tiere mit 30,4 g Körpergewicht hatten 2 Tage gehungert, dann bekam jedes Tier je 0,2 ccm P-Emulsion per anus. Die Inanition wurde fortgesetzt. 2 Tage nach der P-Einverleibung ist der Tod eingetreten. Die Tiere wogen vor der Vergiftung 21,62 g. Die Gewichtsabnahme betrug bis zum Tode in toto 33,2%.

Art und Zahl der Tiere	Totalgewicht	Leichengewicht	Lebergewicht	Gesamtstickstoff	Leichenstickstoff	Leberstickstoff	Gesamtfett	Leichenfett	Leberfett
2 Mäuse	20,4 g	19,3 g	1,1 g	0,47 g	0,44 g	0,032 g	1,82 g	1,75 g	0,08 g
Prozentische Werte, auf wasserhaltiges Material berechnet				2,34%	2,294%	3,045%	8,99%	9,06%	7,17%

Stickstoff- und Fettverteilung in der Leiche und Leber.

	Absolute Menge g	Prozentischer Vergleich		Absolute Menge g	Prozentischer Vergleich
Gesamtstickstoff	0,47	100,0	Gesamtfett	1,82	100,0
Leichenstickstoff	0,44	93,2	Leichenfett	1,73	95,3
Leberstickstoff	0,032	6,8	Leberfett	0,076	4,7

Übersichtstabelle der Stickstoff- und Fettverteilung in den Mäuseversuchen II A, B, C und D.

	In Proz. der feuchten Materialien						Verteilung in Pros. des Gesamtstickstoffs und Gesamtfettes			
	Gesamtstickstoff	Leichenstickstoff	Leberstickstoff	Gesamtfett	Leichenfett	Leberfett	Leichenstickstoff	Leberstickstoff	Leichenfett	Leberfett
Versuchsreihe II A (normale Ernährung)	2,79	2,72	3,86	14,50	15,07	5,90	91,3	8,7	97,4	2,6
Versuchsreihe II B (2 tägige Inanition)	2,7	2,652	3,453	13,0	13,49	4,89	92,7	7,3	97,8	2,2
Versuchsreihe II C (4 tägige Inanition)	2,36	2,34	2,902	9,03	9,24	3,997	95,3	4,7	98,3	1,7
Versuchsreihe II D (P-Vergiftung im Laufe 4täg. Inanition)	2,34	2,294	3,045	8,99	9,06	7,17	93,2	6,8	95,3	4,7

Diese Versuche sind genaue Wiederholungen von den Mäuseversuchen I. Setzen wir, wie üblich, die prozentischen Werte bei Normaltieren = 100 und rechnen wir die hierzu entsprechenden Werte bei allen Versuchstieren nochmals prozentisch aus, so erhalten wir folgende Übersichtstabelle:

	Gesamt-N %	Gesamtfett %	Leber-N %	Leberfett %
Normale Ernährung (II A) . .	100,0	100,0	100,0	100,0
2tägige Inanition (II B) . . .	96,8	89,6	89,4	82,9
(Differenz von norm. Ernähr.)	(– 3,2)	(– 10,4)	(– 10,6)	(– 17,1)
4tägige Inanition (II C) . . .	84,6	62,3	75,1	67,7
(Differenz von norm. Ernähr.)	(– 15,4)	(– 37,7)	(– 24,9)	(– 32,3)
P-Vergiftg. bei Inanition II D)	83,9	62,0	78,9	121,5
(Differenz von norm. Ernähr.)	(– 16,1)	(– 38,0)	(– 21,1)	(+ 21,5)

Die Resultate dieser Versuche lauten wiederum: Trotz starker Abnahme des Gesamtfettes (38%) fand eine beträchtliche Zunahme des Leberfettes (21%) infolge der P-Vergiftung statt.

Demnach stimmen die Resultate der beiden Mäuseversuche im allgemeinen mit denjenigen der Froschversuche gut überein. Nur ließe sich bei den Fröschen in bezug auf die Stickstoff- und

Fettabnahme zwischen normaler Ernährung und reiner Inanition, sowie zwischen dieser und der mit P-Vergiftung kombinierten Inanition kein scharfer Unterschied feststellen, weil man nicht imstande ist, Frösche normalerweise zu ernähren. Bei den Mäusen nimmt die Gesamtmenge von Stickstoff und Fett sowohl absolut wie relativ beinahe parallel mit der Inanitionsdauer ab, und zwar in fast gleich starkem Grade, ob sie mit Phosphor vergiftet werden oder nicht. Ein großer Unterschied zwischen dem reinen Hunger und der mit Phosphorvergiftung kombinierten Inanition besteht sowohl bei Fröschen wie bei Mäusen darin, daß bei der P-Vergiftung trotz starker Abnahme des Gesamtfettes eine beträchtliche Zunahme des Leberfettes erfolgt, während bei der reinen Inanition das Leberfett ebenfalls stark abnimmt. Somit erscheint uns der Schluß in der Tat berechtigt, daß sowohl bei Fröschen wie bei Mäusen im Hungerzustande infolge der P-Vergiftung eine beträchtliche Wanderung des Fettes nach der Leber hin stattfindet. Hiergegen könnte indes doch der Einwand erhoben werden, daß zur definitiven Entscheidung des Problems die Zahl der Vergiftungsversuche etwas zu knapp sei. Es könnte der obige Befund doch auf ganz reinen Zufall oder auf die individuellen Verschiedenheiten der Versuchstiere beruhen.

Daß infolge der Inanition sowohl Eiweiß wie Fett allmählich im Organismus der Tiere verzehrt wird, ist ein ganz normaler Vorgang des Hungerstoffwechsels. Demnach würde niemand die Ansicht teilen, daß derjenige Teil des Eiweißes, der infolge der Inanition mit oder ohne P-Vergiftung im Organismus verzehrt wird, zur Fettneubildung herangezogen worden sei. Hieraus geht soviel mit Sicherheit hervor, daß jede Möglichkeit der Fettneubildung aus Eiweiß bei Hungerphosphortieren ausgeschlossen ist. Auf Grund dieser Erwägung habe ich in den folgenden Versuchen die Stickstoffbestimmungen weggelassen und nur den Fettstoffwechsel bei P-Vergiftung noch weiter verfolgt. Allerdings habe ich zudem noch in allen Fällen die Jodzahlbestimmungen des Fettes hinzugefügt, damit man die Normalwerte der Jodzahl bei Mäusen genau kennt, um hieran das Studium des Wanderungsmodus fremden Fettes bei Mäusen anzuknüpfen. Die einzelnen Daten sind tabellarisch verzeichnet.

Fettbestimmung an der Leiche und Leber der normal ernährten Tiere nebst Jodzahlbestimmung des Fettes.

Mäuseversuche III A.

Die mit Reis und Gemüse ernährten Tiere wurden getötet und Leiche und Leber getrennt verseift.

Art und Zahl der Tiere	Total-gewicht	Leichen-gewicht	Leber-gewicht	Gesamt-fett	Leichen-fett	Leberfett	Jodzahl d. Leichenfettes	Jodzahl des Leberfettes
2 Mäuse	25,18 g	23,20 g	1,98 g	3,865 g	3,762 g	0,109 g	77,29	80,47
Prozentische Werte, auf wasserhaltiges Material berechnet				15,35%	16,21%	5,20%		

Mäuseversuche III B.

Genaue Wiederholung von III A.

Art und Zahl der Tiere	Total-gewicht	Leichen-gewicht	Leber-gewicht	Gesamt-fett	Leichen-fett	Leberfett	Jodzahl d. Leichenfettes	Jodzahl des Leberfettes
2 Mäuse	26,3 g	24,0 g	2,3 g	3,815 g	3,686 g	0,129 g	77,25	79,49
Prozentische Werte, auf wasserhaltiges Material berechnet				14,50%	15,36%	5,580%		

Mittelwerte von Fettgehalt und Jodzahl des Fettes in den Mäuseversuchen III A und B.

Normale Ernährung	In Proz. der feuchten Materialien			In Proz. des Gesamtfettes		Jodzahl des	
	Gesamt-fett	Leichen-fett	Leberfett	Leichen-fett	Leberfett	Leichen-fettes	Leber-fettes
A	15,35	16,21	5,20	97,3	2,7	77,29	80,47
B	14,50	15,36	5,58	96,6	3,4	77,25	79,49
Mittel	14,93	15,79	5,39	97,0	3,0	77,27	79,98

Fettbestimmung der Leiche und Leber der Hungertiere nebst Jodzahlbestimmung des Fettes.

Mäuseversuche IV A.

Die Tiere wogen in toto 22,2 g. Dieselben wurden nach 4tägiger Inanition getötet. Die Gewichtsabnahme betrug 29,9%.

Art und Zahl der Tiere	Total-gewicht	Leichen-gewicht	Leber-gewicht	Gesamt-fett	Leichen-fett	Leberfett	Jodzahl d. Leichenfettes	Jodzahl des Leberfettes
2 Mäuse	15,56 g	14,82 g	6,74 g	0,946 g	0,913 g	0,0346 g	78,16	81,20
Prozentische Werte, auf wasserhaltiges Material berechnet				6,080%	6,158%	4,547%		

Mäuseversuche IV B.

Die Tiere wogen in toto 25,6 g. Sie wurden nach 4tägiger Inanition getötet. Die Gewichtsabnahme betrug 26,58%.

Art und Zahl der Tiere	Totalgewicht	Leichengewicht	Lebergewicht	Gesamtfett	Leichenfett	Leberfett	Jodzahl d. Leichenfettes	Jodzahl des Leberfettes
2 Mäuse	18,8 g	17,8 g	1,0 g	15,35 g	1,488 g	0,047 g	77,94	80,52
Prozentische Werte, auf wasserhaltiges Material berechnet				8,164%	8,362%	4,58%		

Mittelwerte von Fettgehalt und Jodzahl des Fettes in Hungerversuchen der Mäuse IV A und IV B.

Hungerversuche	In Proz. der feuchten Materialien			In Proz. des Gesamtfettes		Jodzahl des	
	Gesamtfett	Leichenfett	Leberfett	Leichenfett	Leberfett	Leichenfettes	Leberfettes
A	6,080	6,158	4,547	96,5	3,5	78,16	81,20
B	8,164	8,362	4,580	97,0	3,0	77,94	80,50
Mittel	7,122	7,260	4,564	96,7	3,3	78,05	80,86

Übersichtstabelle von III und IV.

Die Fettverteilung in der Leiche und besonders in der Leber bei gefütterten und hungernden Mäusen nebst Jodzahl.

Ernährungszustand	In Proz. der feuchten Materialen			In Proz. des Gesamtfettes		Jodzahl des	
	Gesamtfett	Leichenfett	Leberfett	Leichenfett	Leberfett	Leichenfettes	Leberfettes
Normale Ernährung .	14,93	15,79	5,391	97,06	3,0	77,27	79,98
Inanition (4 Tage) . .	7,123	7,260	4,564	96,7	3,3	78,05	80,86

Prozentisch betrachtet ist die Gesamtfettmenge der Mäuse durch die 4tägige Inanition auf die Hälfte der normalen Werte gesunken. Die Verteilung der Fettmenge auf Leiche und Leber, sowie die Jodzahl des Fettes ist indessen bei der Inanition fast unverändert geblieben.

Fettgehaltsbestimmung der Leiche und Leber der mit Phosphor vergifteten Mäuse, die vor der Vergiftung normal ernährt, aber nach der Vergiftung der Inanition ausgesetzt wurden. Jodzahlbestimmung des Fettes.

Mäuseversuche V A.

Die Tiere mit 28,4 g Körpergewicht wurden mit P-Emulsion (je 0,2 ccm) vergiftet. 4 Tage nach der Vergiftung sind dieselben gestorben. Die Gewichtsabnahme betrug 33,33 %.

Art u. Zahl der Tiere	Totalgewicht	Leichengewicht	Lebergewicht	Gesamtfett	Leichenfett	Leberfett	Jodzahl d. Leichenfettes	Jodzahl d. Leberfettes
2 Mäuse	21,3 g	19,6 g	1,7 g	2,031 g	1,915 g	0,116 g	76,52	80,64
Prozentische Werte, auf wasserhaltiges Material berechnet				9,535 %	9,743 %	6,985 %		

Mäuseversuch V B.

Die Tiere mit 28,7 g Körpergewicht wurden mit Phosphor (je 0,2 ccm) vergiftet. 3 Tage nach den Vergiftungen ist der Tod eingetreten. Die Gewichtsabnahme betrug 21,25 %.

Art u. Zahl der Tiere	Totalgewicht	Leichengewicht	Lebergewicht	Gesamtfett	Leichenfett	Leberfett	Jodzahl d. Leichenfettes	Jodzahl d Leberfettes
2 Mäuse	22,6 g	20,8 g	1,8 g	2,206 g	2,092 g	0,114 g	78,32	81,46
Prozentische Werte, auf wasserhaltiges Material berechnet				9,338 %	10,05 %	6,187 %		

Mittelwerte von Fettgehalt und Jodzahl des Fettes in Mäuseversuchen mit Phosphorvergiftung V A und V B.

P-Vergiftung	In Proz. der feuchten Materialien			In Proz. des Gesamtfettes		Jodzahl des	
	Gesamtfett	Leichenfett	Leberfett	Leichenfett	Leberfett	Leichenfettes	Leberfettes
A	9,535	9,743	6,985	94,28	5,70	76,52	80,64
B	9,738	10,05	6,187	94,82	5,16	78,32	81,46
Mittel	9,637	9,897	6,586	94,55	5,43	77,42	81,05

Bei der P-Vergiftung mit nachfolgender Inanition betrug die Abnahme der Gesamtfettmenge ca. $^1/_3$ der normalen Ernährungswerte. Diese Abnahme war jedoch etwas geringer als diejenige bei reiner Ina-

nition. Was die Verteilung des Fettes betrifft, so nahm die Menge des Leberfettes bei P-Vergiftung wiederum beträchtlicher zu, als die Normal- bzw. reinen Hungerwerte, was auf eine Fettwanderung nach der Leber hindeutet.

Fettbestimmung der Leiche und Leber der mit Phosphor vergifteten Mäuse, die vor und nach der Vergiftung gehungert haben.

Mäuseversuche VI A.

Die Tiere wogen in toto 29,8 g. 3 Tage nach der Inanition wogen sie 24,44 g; sie sind an demselben Tage mit P-Emulsion (je 0,2 ccm) vergiftet und nach 2 Tagen gestorben. Die Gewichtsabnahme betrug 23,19%.

Art u. Zahl der Tiere	Total-gewicht	Leichen-gewicht	Leber-gewicht	Gesamt-fett	Leichen-fett	Leber-fett	Jodzahl d. Leichen-fettes	Jodzahl d. Leber-fettes
2 Mäuse	22,89 g	21,72 g	1,178 g	1,994 g	1,905 g	0,089 g	77,50	80,74
Prozentische Werte, auf wasserhaltiges Material berechnet				8,730%	8,770%	7,593%		

Mäuseversuche VI B.

Die Tiere wogen in toto 28,2 g. 3 Tage nach der Inanition wogen sie 22,5 g; sie sind an demselben Tage mit P-Emulsion (je 0,2 ccm) vergiftet und nach 2 Tagen gestorben. Die Gewichtsabnahme betrug 24,11%.

Art u. Zahl der Tiere	Total-gewicht	Leichen-gewicht	Leber-gewicht	Gesamt-fett	Leichen-fett	Leber-fett	Jodzahl d. Leichen-fettes	Jodzahl d. Leber-fettes
2 Mäuse	21,40 g	20,12 g	1,28 g	1,945 g	1,848 g	0,097 g	77,35	79,86
Prozentische Werte, auf wasserhaltiges Material berechnet				9,046%	9,185%	7,580%		

Mittelwerte von Fettgehalt und Jodzahl des Fettes in Mäuseversuchen mit P-Vergiftung, die vor und nach der Vergiftung gehungert haben.

P-Vergiftung	In Proz. der feuchten Materialien			In Proz. des Gesamtfettes		Jodzahl des	
	Gesamtfett	Leichenfett	Leberfett	Leichenfett	Leberfett	Leichenfettes	Leberfettes
A	8,730	8,770	7,593	95,5	4,5	77,50	80,74
B	9,046	9,185	7,580	95,0	5,0	77,15	79,86
Mittel	8,888	8,978	7,587	95,3	4,7	77,43	80,30

Bei diesen vor und nach der P-Vergiftung hungernden Tieren waren die Resultate beinahe dieselben, wie bei den früheren hungernden Tieren. Neben beträchtlicher Abnahme der Gesamtfettmenge fand ebenfalls eine starke Zunahme des Leberfettes statt.

Im folgenden sind die Mittelwerte der einzelnen Versuche tabellarisch zusammengestellt:

Ernährungszustand	Absolute Menge in Gramm			In Proz. der feuchten Materialien			In Proz. d. Gesamtfettes		Mittel von
	Gesamtfett	Leichenfett	Leberfett	Gesamtfett	Leichenfett	Leberfett	Leichenfett	Leberfett	
Normale Ernährung . . .	7,840	3,724	0,116	14,93	15,79	5,391	97,0	3,0	III A u. B
Reine Inanition (4 Tage) . . .	1,240	1,20	0,04	7,12	7,26	4,564	96,72	3,3	IV A u. B
P-Vergiftung u. darauf Inanition (3—4 Tage)	2,11	2,00	0,115	9,64	9,90	6,586	94,5	5,5	V A u. B
Inanition vor u. nach d. P-Vergiftung (5 Tage)	1,969	1,88	0,093	8,89	8,98	7,587	95,3	4,7	VI A u. B

Um den Vergleich ganz übersichtlich zu machen, habe ich im folgenden wiederum die prozentischen Werte von Gesamtfett und Leberfett bei normal ernährten Tieren = 100 gesetzt und alle entsprechenden Hungerwerte mit oder ohne P-Vergiftung nochmals prozentisch ausgerechnet:

	Gesamtfett %	Leberfett %
Normale Ernährung	100	100
Reine Inanition (4 Tage)	47,7	84,7
(Differenz von normaler Ernährung)	(— 52,3)	(— 15,3)
P-Vergiftung und darauf Inanition (3—4 Tage)	64,6	122,2
(Differenz von normaler Ernährung)	(— 35,4)	(+ 22,2)
Inanition vor und nach der P-Vergiftung . .	59,5	140,7
(Differenz von normaler Ernährung)	(— 40,5)	(+ 40,7)

Aus diesem Vergleiche geht aufs klarste hervor, daß die Gesamtmenge des Fettes sowohl bei reiner Inanition wie bei der mit P-Vergiftung kombinierten Inanition sehr stark abgenommen, daß dagegen die Menge des Leberfettes bei den P-Vergiftungen bedeutend zugenommen hat. Die absolute Abnahme des Gesamtfettes muß in Wirklichkeit noch viel größer sein als die obigen prozentischen Vergleiche angeben, weil die Körpergewichte der Tiere bei allen Hungertieren mit oder ohne P-Vergiftung durchschnittlich über 20% abgenommen haben. Wenn man selbst den individuellen Verschiedenheiten der Kontroll- und Versuchstiere in bezug auf ihren Fettgehalt genügend Rechnung trägt, so geht aus den

Resultaten sämtlicher bisher untersuchten Versuchsreihen nunmehr mit aller Sicherheit hervor, daß bei der P-Vergiftung keine Fettneubildung aus Eiweiß, sondern neben Fettzersetzung eine unverkennbare Fettwanderung nach der Leber hin stattfindet. Daß die Abnahme des Gesamtfettes bei reiner Inanition bei diesen Versuchsreihen etwas stärker war als bei der Inanition mit P-Vergiftung, deutet darauf hin, daß bei den Phosphortieren die Oxydationsfähigkeit der Zellen infolge der Giftwirkung etwas abgenommen hat.

Bei den vorhergehenden Versuchen habe ich die Jodzahl des Leichen- und Leberfettes sämtlich getrennt bestimmt. Die einzelnen Werte sind im folgenden zusammengestellt:

Jodzahl des Leichen- und Leberfettes.

Nummer der Mäuseversuche	Ernährungszustand	Jodzahl von Leichenfett	Jodzahl von Leberfett
III A	Gefütterte Mäuse ohne P-Vergiftung getötet	77,29	80,47
III B		77,25	79,49
IV A	4 Tage nach der Inanition ohne P Vergiftung getötet	78,16	81,20
IV B		77,94	80,52
V A	Gefütterte Mäuse mit P-Vergiftung, ohne Fütterung nach 4 Tagen gestorben	76,52	80,64
V B		78,32	81,46
VI A	3 Tage nach der Inanition mit P-vergiftet, ohne Fütterung. 2 Tage nach der Vergiftung gestorben	77,50	80,74
VI B		77,35	79,86
	Mittel . . .	77,54	80,54

Die Relation der Jodzahl von Leichenfett und Leberfett ist 100:104. Demnach ist die Jodzahl des Leichen- und Leberfettes der Tanzmäuse sowohl bei der normalen Ernährung, wie bei der Inanition mit oder ohne P-Vergiftung fast dieselbe geblieben. Sie beträgt durchschnittlich bei Leichenfett 77,54 und bei Leberfett 80,54%, ist also bei letzterem im Mittel etwa um 4% höher.

Versuche zur Feststellung des Ortes der Fettabstammung bei dem Vorgange der Fettwanderung.

Nachdem es von mir auf Grund vorhergehender Versuche mit absoluter Sicherheit festgestellt worden war, daß die Genese der Fettleber, die infolge der P-Vergiftung zutage tritt, nicht auf die Neubildung aus Eiweiß, sondern lediglich auf dem Transport beruht, interessierte mich weiter die Frage, zu entscheiden, aus welchem Gewebe das Fett bei der P-Vergiftung herausfließt. Hierzu habe ich als besonders charakteristisches Fett

den japanischen Lebertran benutzt. Alle Lebertrane lassen sich durch zwei typische Eigenschaften von den meisten anderen Fetten sehr gut unterscheiden. Sie haben nämlich eine sehr hohe Jodzahl. Außerdem gibt ihre Lösung in Chloroform mit konzentrierter Schwefelsäure eine ganz typische Farbenreaktion. Die ausländischen Trane geben dabei meist von Anfang an eine tief violettrote Farbe, die japanischen Trane dagegen merkwürdigerweise im ersten Augenblick stets lebhafte Blaufärbung, die bald in violett umschlägt. Ob diese Reaktion den Tranfettsäuren selber eigentümlich ist, oder vielmehr durch die hartnäckige Beimengung eines noch unbekannten Lipochroms bedingt ist, scheint zurzeit noch nicht entschieden zu sein. Als ich Lebertran nach der japanischen Pharmakopeae III nach Kumagawa-Suto verseifte und das hieraus dargestellte Petroläther extrakt mit konzentrierter Schwefelsäure versetzte, trat jene typische Blaufärbung nicht konstant auf. Manchmal tritt an Stelle der Blaufärbung von Anfang an eine dunkelbräunliche Färbung auf. Das Extrakt besaß indes eine Jodzahl von 130 in Übereinstimmung mit der Angabe von M. Hirayama[1]). Wenn man Lebertran einfach mit Mäusefett durchmischt, so zeigt das Gemenge natürlich typische Blaufärbung. Wird das Gemenge einmal verseift, so zeigt das hieraus dargestellte Petrolätherextrakt keine typische Reaktion mehr. Dies gilt ganz ebenso, wenn man Lebertran mit anderen Geweben zusammen verseift, obzwar uns eine unverkennbare Steigerung der Jodzahl des Petrolätherextraktes für die Gegenwart des Lebertrans in demselben einen sicheren Beweis lieferte. Diese Vorprobe hat uns demnach gezeigt, daß die erwähnte Farbenreaktion dem Lebertran nicht eigentümlich ist, sondern durch die hartnäckige Beimengung eines Lipochroms bedingt ist, und ferner, daß dieses Lipochrom durch die Verseifung des Lebertrans mit oder ohne Beimengung von anderem Fett oder Gewebe meist vollständig zerstört wird.

Trotz dieser Täuschung in der anfänglichen Voraussetzung habe ich im folgenden dennoch japanischen Lebertran in der Erwägung zu unseren Versuchen benutzt, daß die Differenz

[1]) M. Hirayama, Über die Säure-, Verseifungs- und Jodzahl des japanischen Lebertrans. Journ. of the pharmaceutiel society of Japan 324, 1909.

der Jodzahl zwischen Mäusefett (80) und Lebertran (130) groß genug sein würde, um den Lebertran im Leberfett der Mäuse mit genügender Sicherheit zu erkennen. Im folgenden habe ich zunächst als Kontrollversuche den Mäusen Lebertran subcutan injiziert und dieselben ohne P-Vergiftung einfach hungern lassen, um zu sehen, wie sich die Jodzahl des Leichen- und Leberfettes der Mäuse nach der Lebertraninjektion verhält. Die einzelnen Daten sind wiederum tabellarisch verzeichnet.

Fett- und Jodzahlbestimmung des Fettes der bei normaler Ernährung mit Lebertran injizierten Mäuse, die nach der Injektion verschiedene Zeit lang dem Fasten ausgesetzt und schließlich getötet worden sind.

Mäuseversuche VII A.

Einer Maus mit 14,94 g Körpergewicht wurde 1,0 ccm Lebertran[1]) subcutan injiziert. Dieselbe wurde ohne Fütterung nach 24 Std. getötet. Die Gewichtsabnahme betrug 3%.

Art und Zahl der Tiere	Totalgewicht	Leichengewicht	Lebergewicht	Gesamtfett	Leichenfett	Leberfett	Jodzahl d. Leichenfettes	Jodzahl des Leberfettes
1 Maus	13,90 g	13,36 g	0,54 g	3,309 g	3,276 g	0,033 g	117,8	81,16
Prozentische Werte, auf wasserhaltiges Material berechnet				23,81%	24,52%	6,12%		

Mäuseversuche VII B.

Einer Maus mit 9,48 g Körpergewicht wurde 1,0 ccm Lebertran subcutan injiziert. Dieselbe wurde ohne Fütterung nach 48 Stunden getötet. Die Gewichtsabnahme betrug 11,4%.

Art und Zahl der Tiere	Totalgewicht	Leichengewicht	Lebergewicht	Gesamtfett	Leichenfett	Leberfett	Jodzahl d. Leichenfettes	Jodzahl des Leberfettes
1 Maus	8,4 g	7,94 g	0,46 g	1,312 g	1,287 g	0,025 g	117,3	80,40
Prozentische Werte, auf wasserhaltiges Material berechnet				15,62%	16,21%	5,35%		

[1]) 1,0 ccm Lebertran wog als solcher 0,7664 g und das Petroläther-extrakt nach der Verseifung desselben 0,7436 g.

Mäuseversuche VII C.

Einer Maus mit 18,0 g Körpergewicht wurde 1,0 ccm Lebertran subcutan injiziert. Dieselbe wurde ohne Fütterung nach 140 Stunden (5 Tagen) getötet. Die Gewichtsabnahme betrug 28,6%.

Art und Zahl der Tiere	Totalgewicht	Leichengewicht	Lebergewicht	Gesamtfett	Leichenfett	Leberfett	Jodzahl d. Leichenfettes	Jodzahl des Leberfettes
1 Maus	12,86 g	12,14 g	0,716 g	1,352 g	1,327 g	0,026 g	116,8	81,38
Prozentische Werte, auf wasserhaltiges Material berechnet				10,51%	10,93%	3,61%		

Mittelwerte von Fettgehalt und Jodzahl des Fettes der mit Lebertran injizierten und hungernden Tiere.

Versuchsreihe	Nach Lebertraninjektion gehungert Std.	In Proz. d. feuchten Materialien			Fettverteilung in Proz. des Gesamtfettes		Jodzahl des	
		Gesamtfett	Leichenfett	Leberfett	Leichenfett	Leberfett	Leichenfettes	Leberfettes
A	24	23,81	24,52	6,117	99,0	1,0	117,8	81,16
B	48	15,62	16,4	5,350	98,1	1,9	117,3	80,40
C	140	10,51	10,93	3,604	98,1	1,9	116,8	81,38
Mittel	—	—	—	—	—	—	117,3	80,98

Das Verhalten der Jodzahl des Leichenfettes zu der des Leberfettes = 100:69.

Wie die Tabelle zeigt, ist der prozentische Fettgehalt der Leichen bei diesen Versuchen bedeutend höher; er gibt nur relative Werte an, weil der injizierte Lebertran mitbestimmt worden ist. Die relativ geringere Gewichtsabnahme der Mäuse bei der Inanition muß ebenfalls darauf zurückgeführt werden. Das wichtigste Ergebnis dieser Versuche ist das Verhalten der Jodzahl des Leichen- und Leberfettes zueinander. Wie die Tabelle zeigt, ist die Jodzahl des Leichenfettes infolge der Lebertraninjektion bedeutend gestiegen. Während dieselbe bei allen bisher untersuchten Tanzmäusen mit oder ohne P-Vergiftung im Mittel 77,5 beträgt, ist dieselbe infolge der Lebertraninjektion auf 117,3 gestiegen, und dieser hohe Wert ist im Laufe von 5 Hungertagen fast konstant geblieben. Dagegen ist die Jodzahl des Leberfettes durch die

Lebertraninjektion gar nicht beeinflußt und selbst nach 5 Hungertagen in fast normalen Grenzen (81) geblieben. Dieser Befund kann nur darauf zurückgeführt werden, daß der injizierte Lebertran im Laufe von 5 Hungertagen fast gar nicht resorbiert und an dem Orte der Injektion einfach liegen geblieben ist. Somit stimmen unsere Resultate entgegen der Leubeschen[1]) Angabe mit denjenigen von Yandele Henderson und E. Fr. Crofutt[2]), sowie von Helmuth Peters[3]) überein, die ebenfalls feststellten, daß das von ihnen subcutan injizierte Baumwollsamenöl resp. Jodipin bei Hunden oder Kaninchen selbst nach längerer Zeit fast nicht resorbiert wurde. Damit will ich indes nicht jede Möglichkeit der Resorption des subcutan injizierten Fettes absprechen. Ja ich will sogar eine langsame Fettresorption von der Injektionsstelle aus zugeben, weil eine, allerdings geringfügige, Verschiebung der Jodzahl zwischen Leichen- und Leberfett nach 5tägiger Inanition in der Tat stattgefunden hat. Dafür spricht auch der Umstand, daß die Hungermäuse nach der Lebertraninjektion etwas länger am Leben bleiben.

Einwandfreier Nachweis der Fettwanderung von den Unterhautdepots nach der Leber.

In den vorhergehenden Mäuseversuchen habe ich festgestellt, daß die Jodzahl des Leichen- und Leberfettes bei verschieden langer Inanition mit oder ohne P-Vergiftung fast unverändert bleibt, und ferner, daß die Jodzahl des Leichenfettes infolge der Lebertraninjektion eine dementsprechende Steigerung zeigt, während diejenige des Leberfettes hierdurch selbst im Laufe von 5 Hungertagen nur wenig beeinflußt wird. Es erhebt sich nun eine sehr interessante Frage, wie sich die Jodzahl des Leichen- und Leberfettes verhält, wenn die Tiere nach der Lebertraninjektion mit Phosphor vergiftet werden.

---

[1]) W. Leube, Über die Verminderung von subcutan injiziertem Fett im Stoffwechsel. Sitzungsber. d. physik.-med. Ges. zu Würzburg 1895, Nr. 1.

[2]) Y. Henderson und E. Fr. Crofutt, Beobachtungen über das Schicksal subcutan injizierten Öls. Amer. Journ. of Physiol. 14.

[3]) H. Peters, Über Jodipin-Resorption. Maly's Jahresber. 35.

Die Resultate der folgenden Versuche geben uns ausgezeichnete Beweise für die Fettwanderung von den Unterhautdepots nach der Leber hin. Zunächst habe ich als Kontrollversuche normal ernährte Tiere nach der Lebertraninjektion sofort getötet. Die einzelnen Daten lauten wie folgt.

Mäuseversuche VIII A.

Kontrollversuche. Die Tiere mit 22,34 g Körpergewicht wurden nach der Lebertraninjektion von je 1,0 ccm sofort getötet.

Art und Zahl der Tiere	Totalgewicht	Leichengewicht	Lebergewicht	Gesamtfett	Leichenfett	Leberfett	Jodzahl d. Leichenfettes	Jodzahl des Leberfettes
2 Mäuse	22,34 g	21,12 g	1,22 g	4,651 g	4,586 g	0,065 g	118,8	80,35
Prozentische Werte, auf wasserhaltiges Material berechnet				20,82 %	21,72 %	5,327 %		

Mäuseversuche VIII B.

Kontrollversuche. Die Tiere mit 21,53 g Körpergewicht wurden nach der Lebertraninjektion von je 1,0 ccm sofort getötet.

Art und Zahl der Tiere	Totalgewicht	Leichengewicht	Lebergewicht	Gesamtfett	Leichenfett	Leberfett	Jodzahl d. Leichenfettes	Jodzahl des Leberfettes
2 Mäuse	21,53 g	20,33 g	1,20 g	4,586 g	4,520 g	0,066 g	119,3	80,5
Prozentische Werte, auf wasserhaltiges Material berechnet				21,3 %	22,23 %	5,517 %		

Mittelwerte von Fettgehalt und Jodzahl des Fettes bei den Versuchen VIII A und B.

Versuchsreihe VIII	In Proz. d. feuchten Materialien			Fettverteilung in Proz. des Gesamtfettes		Jodzahl des	
	Gesamtfett	Leichenfett	Leberfett	Leichenfett	Leberfett	Leichenfettes	Leberfettes
A	20,82	21,72	5,327	98,6	1,4	118,2	80,3
B	21,30	22,23	5,517	98,5	1,5	119,3	80,5
Mittel	21,06	21,98	5,426	98,5	1,5	118,8	80,4

In den folgenden Versuchsreihen sind die normal ernährten Tiere mit Lebertran injiziert und ohne P-Vergiftung 4 Tage der Inanition ausgesetzt worden.

Mäuseversuche IX A.

Lebertraninjektion + Inanition. Den Tieren mit 24,43 g Körpergewicht wurde Lebertran (je 1,0 ccm) subcutan injiziert; nach 4tägiger Inanition wurden dieselben getötet. Die Gewichtsabnahme betrug 23%.

Art und Zahl der Tiere	Totalgewicht	Leichengewicht	Lebergewicht	Gesamtfett	Leichenfett	Leberfett	Jodzahl d. Leichenfettes	Jodzahl des Leberfettes
2 Mäuse	18,81 g	17,76 g	1,05 g	2,018 g	1,972 g	0,046 g	118,5	80,9
Prozentische Werte, auf wasserhaltiges Material berechnet				10,73%	11,10%	4,381%		

Mäuseversuche IX B.

Lebertraninjektion + Inanition. Den Tieren mit 25,53 g Körpergewicht wurde Lebertran (je 1,0 ccm) subcutan injiziert; nach 4tägiger Inanition wurden dieselben getötet. Die Gewichtsabnahme betrug 23%.

Art und Zahl der Tiere	Totalgewicht	Leichengewicht	Lebergewicht	Gesamtfett	Leichenfett	Leberfett	Jodzahl d. Leichenfettes	Jodzahl des Leberfettes
2 Mäuse	19,64 g	18,57 g	1,07 g	2,130 g	2,082 g	0,0477 g	118,3	80,6
Prozentische Werte, auf wasserhaltiges Material berechnet				10,84%	11,21%	4,458%		

Mittelwerte von Fettgehalt und Jodzahl des Fettes bei den Versuchen IX A und B.

Versuchsreihe IX	In Proz. d. feuchten Materialien			Fettverteilung in Proz. des Gesamtfettes		Jodzahl des	
	Gesamtfett	Leichenfett	Leberfett	Leichenfett	Leberfett	Leichenfettes	Leberfettes
A	10,73	11,10	4,381	97,7	2,3	118,5	80,8
B	10,84	11,21	4,458	97,7	2,3	118,3	80,5
Mittel	10,85	11,16	4,420	97,7	2,3	118,4	80,7

Eigentliche Versuche mit Lebertraninjektion und P-Vergiftung.

Mäuseversuche X A.

Den Tieren mit 26,94 g Körpergewicht wurde je 1,0 ccm Lebertran subcutan injiziert; dann ließ man sie fasten. 2 Tage nach der Lebertraninjektion (mit 24,31 g Körpergewicht) wurde den Tieren je 0,2 ccm P-Emulsion per anus eingeführt und die Inanition weiter fortgesetzt. Dieselben sind 2 Tage nach der Vergiftung gestorben. Die Gewichtsabnahme betrug 22%.

Art und Zahl der Tiere	Totalgewicht	Leichengewicht	Lebergewicht	Gesamtfett	Leichenfett	Leberfett	Jodzahl d. Leichenfettes	Jodzahl des Leberfettes
2 Mäuse	21,00 g	19,72 g	1,28 g	2,198 g	2,086 g	0,112 g	96,79	102,8
Prozentische Werte, auf wasserhaltiges Material berechnet				10,47%	10,58%	8,75%		

Mäuseversuche X B.

Den Tieren mit 25,29 g Körpergewicht wurde je 1,0 ccm Lebertran subcutan injiziert; dann ließ man sie fasten. 2 Tage nach der Inanition (mit 23,45 g Körpergewicht) wurde den Tieren je 0,2 ccm P-Emulsion per anus eingebracht. Dieselben sind 2 Tage nach der Vergiftung gestorben. Die Gewichtsabnahme betrug 21%.

Art und Zahl der Tiere	Totalgewicht	Leichengewicht	Lebergewicht	Gesamtfett	Leichenfett	Leberfett	Jodzahl d. Leichenfettes	Jodzahl des Leberfettes
2 Mäuse	19,88 g	18,65 g	1,23 g	2,013 g	1,913 g	0,100 g	98,0	105,2
Prozentische Werte, auf wasserhaltiges Material berechnet				10,13%	10,26%	8,13%		

Mittelwerte von Fettgehalt und Jodzahl des Fettes bei den mit Lebertran und P-Emulsion behandelten Mäusen.

Versuchsreihe	In Proz. d. feuchten Materialien			Fettverteilung in Proz. des Gesamtfettes		Jodzahl des	
	Gesamtfett	Leichenfett	Leberfett	Leichenfett	Leberfett	Leichenfettes	Leberfettes
A	10,47	10,58	8,750	94,9	5,1	96,7	102,8
B	10,13	10,26	8,156	95,0	5,0	98,0	105,2
Mittel	10,30	10,42	8,453	95,0	5,0	97,4	104,0

Vergleichende Tabelle über die Verteilung und Jodzahl des Leichen- und Leberfettes nach Lebertraninjektion der Hungermäuse mit oder ohne P-Vergiftung.

Lebertranversuche mit oder ohne P-Vergiftung	In Proz. d. feuchten Materialien			Fettverteilung in Proz. des Gesamtfettes		Jodzahl des	
	Gesamtfett	Leichenfett	Leberfett	Leichenfett	Leberfett	Leichenfettes	Leberfettes
Lebertraninjektion ohne P-Vergiftung (VIII)	21,06	21,98	5,426	98,5	1,5	118,8	80,4
Nach Lebertraninjekt. 4tägige Inanition ohne P-Vergiftung (IX)	10,85	11,16	4,420	97,7	2,3	118,4	80,7
Lebertraninjektion m. P-Vergiftung (X).	10,30	10,42	8,45	95,0	5,0	97,4	104,0

Setze ich zur besseren Übersicht wiederum die prozentischen Werte von Gesamtfett, Leberfett, sowie die Jodzahlen von Leichen- und Leberfett bei Lebertranmäusen normaler Ernährung ohne P-Vergiftung = 100, so lauten die entsprechenden Werte der Lebertrantiere bei der Inanition mit oder ohne P-Vergiftung wie folgt:

	Gesamtfett %	Leberfett %	Jodzahl des Leichenfettes	Jodzahl des Leberfettes
Lebertraninjektion bei normaler Ernähr. ohne P-Vergiftg. (VIII)	100	100	100	100
Nach Lebertraninjektion 4tägig. Inanition ohne P-Vergiftg. (IX)	51,5	81,5	99,7	100,3
(Differenz vom Normalwert) .	(− 48,5)	(− 18,5)	(− 0,3)	(+ 0,3)
Lebertraninjektion mit P-Vergiftung (X)	48,8	155,8	82,0	129,3
(Differenz vom Normalwert) .	(− 51,2)	(+ 55,8)	(− 18,0)	(+ 29,3)

Wie man sieht, änderte sich das Verhalten der Jodzahl des Leichen- und Leberfettes bei Lebertrantieren infolge der P-Vergiftung mit einem Schlage ganz. Die Jodzahl des Leichenfettes sank von 118,8 (Lebertran ohne Phosphor) auf 97,4 (Lebertran + Phosphor). Dagegen stieg die Jodzahl des Leberfettes von 80,4 (Lebertran ohne Phosphor) auf 104,0

(Lebertran + Phosphor). Prozentisch ausgedrückt, hat bei P-Tieren die Jodzahl des Leichenfettes im Vergleich mit derjenigen der Lebertrantiere ohne P-Vergiftung um 18% abgenommen und diejenige des Leberfettes dagegen um 29,4% zugenommen. Diese ganz plötzliche Umkehrung des Verhaltens der Jodzahl zwischen Leichen- und Leberfett infolge der P-Vergiftung bei Lebertrantieren gibt uns die besten Beweise dafür, daß der den Mäusen subcutan injizierte Lebertran, der bei reiner Inanition in kurzen Zeiträumen fast gar nicht resorbiert wird, infolge der P-Vergiftung von dem Orte der Injektion nach der Leber hingewandert ist. Dieser Beweis wurde noch dadurch gestützt, daß der Fettgehalt der Leber infolge der P-Vergiftung auch bei diesen Versuchen bedeutend — um 54% — zugenommen hat, trotzdem das Gesamtfett infolge der Inanition um 51% des normalen Lebertranwertes herabgesetzt worden war. Der prozentische Vergleich des Leichen- und Leberfettes bei diesen Versuchsreihen gibt allerdings nur den relativen Wert an, weil der injizierte Lebertran nicht abgezogen, sondern überall mit dem Mäusefett zusammen in Rechnung gebracht wurde. Hierdurch wird indessen das wahre Wesen des Fetttransportes nur in geringem Maße gestört.

Im folgenden habe ich noch einige Versuche angestellt, bei denen die Tiere im Laufe der Inanition gleichzeitig mit Lebertran und Phosphor behandelt worden sind.

Fett- und Jodzahlbestimmung des Fettes der hungernden Mäuse, die Lebertran und P-Emulsion gleichzeitig bekommen haben.

Mäuseversuche XI A.

Die Tiere wogen 27,40 g und nach 4 Hungertagen 20,9 g. Am 5. Tage wurde den Tieren je 1,0 ccm Lebertran subcutan und zugleich 0,2 ccm P-Emulsion per anus beigebracht. Die Tiere sind nach 2 Tagen gestorben. Die Gewichtsabnahme betrug beim Tode 25%.

Art und Zahl der Tiere	Totalgewicht	Leichengewicht	Lebergewicht	Gesamtfett	Leichenfett	Leberfett	Jodzahl d. Leichenfettes	Jodzahl des Leberfettes
2 Mäuse	20,7 g	19,48 g	1,22 g	2,218 g	2,121 g	0,097 g	105,9	96,2
Prozentische Werte, auf wasserhaltiges Material berechnet				10,71%	10,88%	7,87%		

Mäuseversuche XI B.

Die Tiere wogen 34,54 g und nach 4 Hungertagen 26,46 g. Am 5. Tage wurde den Tieren je 1,0 ccm Lebertran subcutan und zugleich 0,2 ccm P-Emulsion per anus eingebracht. Die Tiere sind nach 2 Tagen gestorben. Die Gewichtsabnahme betrug beim Tode 21%.

Art und Zahl der Tiere	Totalgewicht	Leichengewicht	Lebergewicht	Gesamtfett	Leichenfett	Leberfett	Jodzahl d. Leichenfettes	Jodzahl des Leberfettes
2 Mäuse	26,42 g	24,84 g	1,58 g	2,646 g	2,526 g	0,12 g	105,3	95,4
Prozentische Werte, auf wasserhaltiges Material berechnet				10,02%	10,16%	7,575%		

Mittelwerte von Fettgehalt und Jodzahl des Fettes in den gleichzeitig mit Lebertran und Phosphoremulsion behandelten Tieren.

Versuchsreihe	In Proz. der feuchten Materialien			Fettverteilung in Proz. des Gesamtfettes		Jodzahl des	
	Gesamtfett	Leichenfett	Leberfett	Leichenfett	Leberfett	Leichenfettes	Leberfettes
A	10,71	10,88	7,874	95,6	4,4	105,9	96,2
B	10,02	11,68	7,575	95,5	4,5	105,3	95,4
Mittel	10,37	11,28	7,725	95,6	4,4	105,6	95,8

Vergleichende Tabelle über Verteilung und Jodzahl des Fettes der normalen Lebertrantiere mit denjenigen der gleichzeitig mit Lebertran und Phosphoremulsion behandelten.

	In Proz. der feuchten Materialien			Fettverteilung in Proz. des Gesamtfettes		Jodzahl des	
	Gesamtfett	Leichenfett	Leberfett	Leichenfett	Leberfett	Leichenfettes	Leberfettes
Lebertraninjektion ohne P-Vergiftg. (VIII)	21,06	21,98	5,426	98,5	1,5	118,8	80,4
Nach Inanition gleichzeit. Lebertraninjektion u. P-Vergiftg. (XI)	10,37	11,28	7,725	95,6	4,4	105,6	95,8

Setze ich wiederum die normalen Werte = 100, so lauten die entsprechenden Werte bei Phosphorlebertrantieren wie folgt:

	Gesamtfett %	Leberfett %	Jodzahl des Leichenfettes	Jodzahl des Leberfettes
Lebertraninjektion bei normaler Ernährung (VIII)	100	100	100	100
Gleichzeitige Einverleibung von Lebertran und P im Laufe der Inanition (XI)	49,2	142,4	94,5	119,1
(Differenz vom normal. Werte)	(− 50,8)	(+ 42,4)	(− 5,5)	(+ 19,1)

Das Resultat dieser Versuche ist fast ebenso eklatant wie bei den vorhergehenden. Infolge der P-Vergiftung hat trotz einer Abnahme des Gesamtfettes um 51% eine Zunahme des Leberfettes um 42% des Normalwertes stattgefunden. Die Vermehrung der Jodzahl des Leberfettes betrug 19% des Normalwertes, also allerdings etwas weniger als bei den vorhergehenden Versuchen, bei denen eine 29%ige Vermehrung der Jodzahl stattfand. Warum bei diesen Versuchsreihen die Steigerung der Jodzahl des Leberfettes viel geringer war als bei den vorhergehenden Versuchen, beruht wohl darauf, daß bei diesen infolge der P-Vergiftung zuerst subcutanes Mäusefett zur Wanderung gelangte und erst in zweiter Linie der injizierte Lebertran an die Reihe kommt, während bei den vorhergehenden Versuchen das subcutane Mäusefett infolge der Inanition vor der P-Vergiftung zum großen Teil schon ausgewandert und wegoxydiert worden ist und daher zur Zeit des Vergiftungstodes sich mehr Lebertran in der Leber anhäufte.

Diese beiden Versuchsreihen haben uns demnach auf die schönste Weise gezeigt, daß dasjenige Fett, das infolge der P-Vergiftung nach der Leber hinwandert, vom Unterhautdepot abstammt.

Phosphorvergiftung bei normaler Ernährung.

Ich habe bei allen bisherigen Versuchen die Wirkung des Phosphors nur an hungernden Mäusen festgestellt. Es fragt sich nun, wie sich die Giftwirkung des Phosphors auf den Fettstoffwechsel der Säugetiere gestaltet, wenn dieselben vor

und nach der Vergiftung normal ernährt werden. Wie in der Einleitung kurz erwähnt, sind derartige Untersuchungen bis jetzt nur von Kraus und Sommer an weißen Mäusen angestellt worden. Die beiden Autoren fanden dabei, daß das Gesamtfett bei Brotfütterung infolge der P-Vergiftung stark herabgesetzt wird und daß das Leberfett selber trotzdem beträchtlich zunimmt. Ich habe folgende Versuche an Tanzmäusen angestellt, die vor und nach der P-Vergiftung ebenfalls mit Brot gefüttert worden sind.

Fett- und Jodzahlbestimmung des Fettes derjenigen Mäuse, die gefüttert und mit Phosphor vergiftet worden sind.

Mäuseversuche XII A.

Die Tiere wogen 26,76 g. Dieselben wurden mit Brot ernährt und bekamen je 0,2 ccm P-Emulsion per anus. Sie lebten ganz munter. Nach 4 Tagen wurden ihnen wiederum je 0,15 ccm Emulsion per anus eingeführt. Da sie noch munter waren, wurden sie am 7. Tage (2 Tage nach der Vergiftung) getötet. Die Gewichtsabnahme betrug beim Tode 6,69 % des anfänglichen Wertes.

Art und Zahl der Tiere	Total-gewicht	Leichen-gewicht	Leber-gewicht	Gesamt-fett	Leichen-fett	Leberfett	Jodzahl d. Leichenfettes	Jodzahl des Leberfettes
2 Mäuse	24,97 g	21,46 g	1,51 g	0,591 g	0,535 g	0,056 g	78,4	80,3
Prozentische Werte, auf wasserhaltiges Material berechnet				2,367 %	2,494 %	3,709 %		

Mäuseversuche XII B.

Bei Ernährung mit Brot wurde den Tieren mit 27,1 g Körpergewicht je 0,2 ccm P-Emulsion per anus eingeführt und nach 6 Tagen nochmals je 0,15 ccm P-Emulsion eingebracht. Am nächsten Morgen wurden sie tot aufgefunden. Die Gewichtsabnahme betrug in toto 15,64 %.

Art und Zahl der Tiere	Total-gewicht	Leichen-gewicht	Leber-gewicht	Gesamt-fett	Leichen-fett	Leberfett	Jodzahl d. Leichenfettes	Jodzahl des Leberfettes
2 Mäuse	22,86 g	21,36 g	1,50 g	0,558 g	0,499 g	0,059 g	77,3	80,5
Prozentische Werte, auf wasserhaltiges Material berechnet				2,441 %	2,336 %	3,933 %		

Mittelwerte von Fettgehalt und Jodzahl des Fettes der gefütterten und mit Phosphor vergifteten Tiere.

Versuchsreihe	Absolute Menge in Gramm			In Proz. d. feuchten Materialien			Fettverteilung in Proz. des Gesamtfettes		Jodzahl des	
	Gesamtfett	Leichenfett	Leberfett	Gesamtfett	Leichenfett	Leberfett	Leichenfett	Leberfett	Leichenfettes	Leberfettes
A	0,591	0,535	0,056	2,367	2,494	3,709	90,5	9,5	78,4	80,3
B	0,588	0,499	0,059	2,441	2,336	3,933	89,4	10,6	77,3	80,5
Mittel	0,590	0,517	0,058	2,404	2,415	3,821	90,0	10,0	77,8	80,4

Es war in der Tat nicht zu erwarten, daß das Gesamtfett bei der Kohlenhydratzufuhr infolge der P-Vergiftung auf das äußerste Minimum reduziert worden ist. Eine so starke Herabsetzung des Körperfettes ist weder durch reine Inanition, noch durch die mit P-Vergiftung kombinierte Inanition bis jetzt beobachtet worden. Um zu zeigen, ein wie großer Unterschied in der Fettabnahme zwischen diesen und den bisherigen Versuchen vorhanden ist, stelle ich im folgenden einige wichtige Fettzahlen der bisher ausgeführten Hauptversuchsreihen hier nochmals zusammen.

Ernährungszustand	Absolute Fettmenge in Gramm			In Proz. d. feuchten Materialien			Leberfett in Proz. des Gesamtfettes
	Gesamtfett	Leichenfett	Leberfett	Gesamtfett	Leichenfett	Leberfett	
Normale Ernährung (III)	3,83	3,72	0,116	14,93	15,79	5,39	3,0
Reine Inanition [4 Tage] (IV)	1,24	1,2	0,04	7,12	7,26	4,56	3,3
Inanition nach P-Vergiftung (V)	2,12	2,0	0,12	9,64	9,9	6,59	5,5
Inanition vor und nach der P-Vergiftung (VI) .	1,97	1,9	0,09	8,89	8,98	7,59	4,7
P-Vergiftung bei normaler Ernährung (XII) . . .	0,58	0,52	0,06	2,40	2,42	3,82	10,0

Um den Vergleich noch ersichtlicher zu machen, setze ich hier wiederum die Hauptfettwerte bei normaler Ernährung = 100 und rechne die hierzu entsprechenden Werte nochmals in der folgenden Tabelle prozentisch aus.

Wie ein Blick auf die Tabelle uns aufs klarste zeigt, ist die Gesamtfettmenge bei Kohlenhydratzufuhr infolge der P-Vergiftung um 84 % des Normalwertes herabgesetzt worden. Die stärkste Fettabnahme, die bis jetzt nach 4tägiger Inanition ohne P-Vergiftung beobachtet wurde, betrug 52,3 % des Normalwertes. Daß das Körperfett infolge des

	Gesamtfett %	Leberfett %	Leberfett in Proz. des Gesamtfettes
Normale Ernährung (III) . .	100	100	100
Reine Inanition (IV)	47,7	84,6	108
(Differenz vom Normalwerte)	(− 52,3)	(− 15,4)	(+ 8)
Inanition nach P-Vergiftung (V)	64,6	122,3	179
(Differenz vom Normalwerte)	(− 35,4)	(+ 22,3)	(+ 79)
Inanition vor und nach der P-Vergiftung (VI)	59,5	140,3	156
(Differenz vom Normalwerte)	(− 40,5)	(+ 40,3)	(+ 56
P-Vergiftung bei normaler Ernährung (XII)	16,1	70,9	333
(Differenz vom Normalwerte)	(− 83,9)	(− 29,1)	(+ 233)

reinen Hungerstoffwechsels allmählich verzehrt wird, ist ein normaler physiologischer Vorgang. Werden die Tiere bei der Inanition mit Phosphor vergiftet, so wird die Größe der Fettzersetzung etwas geringer als bei reiner Inanition (35 bis 41 %, V und VI). Dies kann wohl darauf zurückgeführt werden, daß die Zersetzungsfähigkeit der Zellen infolge der Giftwirkung etwas herabgesetzt worden ist. Um so merkwürdiger und unverständlicher ist der Befund, daß das Fett bei genügender Zufuhr der Calorien in Form von Kohlenhydrat durch die P-Vergiftung rasch und in ungleich stärkerem Grade verschwindet, als bei reiner Inanition. Das Leberfett hat in diesen Versuchsreihen ebenfalls abgenommen. Aber diese Abnahme des Leberfettes (— 29 %) ist ungleich geringer als die Abnahme des Gesamtfettes (— 84 %). Dieser Umstand, sowie eine auffallende Steigerung des Leberfettwertes in Prozenten des Gesamtfettes (+ 233) deutet ohne Zweifel darauf hin, daß auch bei diesen Versuchen trotz maximaler Herabsetzung des Gesamtfettes doch eine Fettwanderung nach der Leber hin stattfand. Daß das Fett in den Fettlebern bei verschiedenen Vergiftungen durch Kohlenhydratzufuhr rasch verschwindet, ist übrigens durch Rosenfeld schon betont worden. Rosenfeld hat hierüber sogar verschiedene Erklärungen geäußert. Ehe ich indes auf diese Hypothese eingehe, scheint es mir notwendig, die Tatsachen selber auf noch sicherer Grundlage zu erhärten. Bei dem bisherigen Vergleiche der Fettmenge habe ich stets den auf feuchte Organe oder Gewebe berechneten prozentischen

Fettgehalt zugrunde gelegt. Gegen eine derartige Betrachtung könnte indessen doch der Einwand erhoben werden, daß der wahre Wert der Fettmenge dann sich verschieben würde und der Vergleich selber an Richtigkeit einbüße, falls sich der Wassergehalt der Mäuseorgane infolge der Inanition resp. P-Vergiftung verändern sollte. Andererseits erschien es mir sehr wünschenswert, festzustellen, ob die Mäuse nach der P-Vergiftung etwa ebensoviel Energie aus dem gefütterten Brote konsumiert haben wie vor der Vergiftung. Auf Grund dieser Erwägung habe ich im folgenden versucht, außer dem Fett- noch den Wassergehalt der Mäuseorgane sowie die calorischen Werte des von den Tieren aufgenommenen Brotes vor und nach der P-Vergiftung zu bestimmen.

Feststellung der Energiezufuhr.

Von dem käuflichen Brote wurde der Rindenteil entfernt und der innere gleichmäßige schwammige Teil allein zur Fütterung verwendet. Derselbe wurde in etwa gleichgroße Stücke zerschnitten und in einer Doppelschale aufbewahrt. Hiervon wurde täglich je ein Stück in das Gefäß hineingelegt, worin sich die Tiere befanden. Das Gewicht des eingelegten Brotstückes wurde jedesmal durch die Doppelwägung der Schale festgestellt. An jedem nächsten Morgen wurde der Rest des Brotstückchens sorgfältig gesammelt. Dasselbe wurde in toto nach Liebermann invertiert und die Reduktionskraft der Lösung nach Pavy-Kumagawa-Suto festgestellt. Hieraus konnte die Menge des verzehrten Brotes leicht zurückgerechnet werden, weil der Prozentgehalt des invertierbaren Kohlenhydrates in einer besonderen Probe ebenfalls nach gleicher Methode festgestellt wurde.

Analyse des Brotes.

Das Fett wurde mittels indirekter Methode durch die Verseifung des Alkoholextraktes nach Kumagawa-Suto bestimmt, indem die gewogenen Brotstücke zuerst direkt, dann im Heißextraktor mit absolutem Alkohol behandelt wurden. 50 g davon ergaben 0,287 g Petrolätherextrakt. Mit dem Faktor 1,046 in Neutralfett umgerechnet, enthielt das Brot 0,60% Fett.

Je 2,0 g Brot gaben nach Kjeldahl 0,0193 g Stickstoff. Mit dem Faktor 6,25 in Eiweiß umgerechnet, enthielt das Brot 6,03% Eiweiß.

Je 10 g Brot nach Liebermann invertiert und nach Pavy-Kumagawa-Suto titriert, ergaben eine Reduktionskraft im Werte von 5,72 g Traubenzucker. Mit dem Faktor 0,9 in Stärke umgerechnet, entsprach der Stärkegehalt des Brotes 51,48% (Zucker mitberechnet).

Je 0,5 g Brot gaben 0,2978 g Trockensubstanz und 0,005 g Asche. Demnach enthielt Brot 59,56% Trockensubstanz resp. 40,44% Wasser und 1,0% Asche.

Hiernach hatte das Brot, das in allen folgenden Versuchen den Tieren vorgelegt wurde, folgende Zusammensetzung:

Wasser	40,44%
Stärke	51,48 „
Eiweiß	6,03 „
Fett	0,60 „
Asche	1,00 „
Summa	99,55%

Die fehlenden 0,45% gehören wohl der Rohfaser an.

Fett- und Trockenbestimmung der Versuchstiere.

Nach der Feststellung des Totalgewichts wurden die Leichen und Lebern getrennt gewogen. Die Leichen wurden in ein mit Alkohol gefülltes Becherglas mit der Schere zerschnitten, auf dem Wasserbade unter Kühlvorrichtung 1 Stunde gekocht und dann abfiltriert. Der Rückstand wurde getrocknet, pulverisiert und dann im Heißextraktor nochmals mit absolutem Alkohol extrahiert. Die beiden Alkoholfiltrate wurden vereinigt, abgedampft und im Exsiccator bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. Das Pulver wurde getrocknet und in toto gewogen. Hiervon wurde je 0,2 g bei 100° bis zur Gewichtskonstanz getrocknet und hieraus das Trockengewicht des Gesamtpulvers berechnet. Die Summe von Alkoholextrakt und Trockenpulver stellt die Trockensubstanz der Leichen dar. Nun wurden sowohl der Alkoholextrakt wie das Pulver verseift und daraus der Petrolätherextrakt dargestellt, das dem Leichenfett entspricht.

Die Leber wurde nach der Zerkleinerung mittels Alkoholzusatz auf dem Wasserbade getrocknet, dann bei 100° und schließlich im Exsiccator bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. Alsdann wurde durch die Verseifung die Menge des Petrolätherextraktes festgestellt.

Mäuseversuche XIII A.

Kontrollversuche. 2 Tiere mit 25,91 g Körpergewicht wurden 6 Tage lang mit Brot von bekannter Energie gefüttert und am Morgen des 7. Tages getötet.

Art und Zahl der Tiere	Totalgewicht		Leichengewicht		Lebergewicht		Gesamtfett	Leichenfett	Leberfett	Jodzahl d. Leichenfettes	Jodzahl d. Leberfettes
	feucht	trocken	feucht	trocken	feucht	trocken					
2 Mäuse	26,09 g	11,25 g	24,40 g	10,67 g	1,69 g	0,58 g	3,664 g	3,586 g	0,078 g	77,54	80,74
Prozentische Werte, auf wasserhaltiges Material berechnet							14,05%	14,70%	4,603%		
Prozentische Werte, auf trockene Substanz berechnet							32,58%	33,60%	13,52%		

Im Verlaufe von 6 Tagen wurden den Tieren in toto 86,38 g Brot dargereicht. Hiervon wurden durch Titration 33,77 g wieder gewonnen. Demnach wurden von den Tieren 52,61 g Brot verzehrt. In 52,61 g Brot sind enthalten:

Eiweiß = 3,172 g = 13,005 Cal. (Eiweiß × 4,1)
Fett = 0,302 g = 2,930 Cal. (Fett × 9,3)
Stärke = 27,084 g = 111,044 Cal. (Stärke × 4,1)

Summa = 126,979 Cal.

Sonach betrug die Energiezufuhr in 6 Tagen 126,98 Calorien, entsprechend 0,811 Cal. pro Gramm und pro 24 Stunden resp. 33,79 Cal. pro Kilo Tier und pro Stunde.

Mäuseversuche XIII B.

Kontrollversuche. 2 Tiere mit 24,35 g Körpergewicht wurden 6 Tage lang mit Brot gefüttert und am Morgen des 7. Tages getötet.

Art und Zahl der Tiere	Totalgewicht		Leichengewicht		Lebergewicht		Gesamtfett	Leichenfett	Leberfett	Jodzahl d. Leichenfettes	Jodzahl d. Leberfettes
	feucht	trocken	feucht	trocken	feucht	trocken					
2 Mäuse	24,38 g	10,48 g	22,80 g	9,940 g	1,58 g	0,540 g	3,586 g	3,5095 g	0,0765 g	77,91	80,32
Prozentische Werte, auf wasserhaltiges Material berechnet							14,71%	15,40%	4,848%		
Prozentische Werte, auf trockene Substanz berechnet							34,22%	35,31%	14,50%		

Im Verlaufe von 6 Tagen wurden den Tieren in toto 91,76 g Brot dargereicht. Hiervon sind zurückgelassen 43,86 g. Demnach wurden 47,79 g Brot von den Tieren in toto verzehrt. In 47,49 g Brot sind enthalten:

Eiweiß = 2,836 g = 11,628 Cal.
Fett = 0,272 g = 2,640 Cal.
Stärke = 24,448 g = 100,237 Cal.

Summa = 114,505 Cal.

Sonach betrug die Energiezufuhr in 6 Tagen 114,505 Cal., entsprechend 0,783 Cal. pro Gramm und pro die, resp. 32,66 Cal. pro Kilo Tier und pro Stunde.

Mittelwerte des Fettgehaltes, der Jodzahl des Fettes und der Calorienzufuhr.

Versuchsreihe XIII	Körpergewicht		Gesamtfett		Leichenfett		Leberfett		Jodzahl des		Calorien pro Kilo und Stunde
	feucht g	trocken g	feucht %	trocken %	feucht %	trocken %	feucht %	trocken %	Leichenfettes	Leberfettes	
A	26,09	11,25	14,05	32,58	14,70	33,60	4,603	13,52	77,54	80,74	33,79
B	24,38	10,48	14,71	34,22	15,40	35,31	4,848	14,50	77,91	80,32	32,66
Mittel . .	25,24	10,87	14,38	33,40	15,05	34,46	4,726	14,01	77,73	80,53	33,23

Mäuseversuche XIII A.

P-Vergiftung bei Brotzufuhr. Die 6 Tage mit Brot gefütterten Tiere wogen 27,48 g. Am 7. Tage wurden sie mit 0,15 ccm P-Emulsion ver-

giftet und die Fütterung mit Brot fortgesetzt. Am 5. Tage nach der ersten P-Vergiftung wurde eine gleiche Dose P-Emulsion nochmals gegeben; am Morgen des 7. Tages sind die Tiere getötet. Dieselben verzehrten im ganzen 46,7 g Brot. Die Gewichtsabnahme betrug 14,6%.

Art und Zahl der Tiere	Totalgewicht		Leichengewicht		Lebergewicht		Gesamtfett	Leichenfett	Leberfett	Jodzahl d. Leichenfettes	Jodzahl d. Leberfettes
	feucht	trocken	feucht	trocken	feucht	trocken					
2 Mäuse	23,46 g	9,70 g	22,04 g	9,28 g	1,42 g	0,422 g	0,586 g	0,537 g	0,049 g	77,98	81,32
Prozentische Werte, auf wasserhaltiges Material berechnet							2,494%	2,44%	3,44%		
Prozentische Werte, auf trockene Substanz berechnet							6,039%	5,79%	11,40%		

In 46,7 g des verzehrten Brotes sind enthalten:

Eiweiß	=	2,816 g =	11,546 Cal.
Fett	=	0,268 g =	2,606 Cal.
Stärke	=	24,087 g =	98,757 Cal.
		Summa =	112,909 Cal.

Demnach betrug die Energiezufuhr in 6 Tagen 112,909 Cal., entsprechend 0,802 Cal. pro Gramm und pro die, resp. 33,41 Cal. pro Kilo Tier und Stunde.

Mäuseversuche XIII B.

P-Vergiftung bei Brotzufuhr. Die 6 Tage mit Brot gefütterten Tiere wogen 25,36 g. Am 7. Tage wurden sie mit 0,15 ccm P-Emulsion vergiftet und die Fütterung fortgesetzt. Am 5. Tage der ersten P-Vergiftung wurde eine gleiche Dose P-Emulsion nochmals gegeben; am Morgen des 7. Tages sind die Tiere getötet. Dieselben verzehrten 41,76 g Brot im ganzen. Die Gewichtsabnahme betrug 16,7%.

Art und Zahl der Tiere	Totalgewicht		Leichengewicht		Lebergewicht		Gesamtfett	Leichenfett	Leberfett	Jodzahl d. Leichenfettes	Jodzahl d. Leberfettes
	feucht	trocken	feucht	trocken	feucht	trocken					
2 Mäuse	21,12 g	8,75 g	19,75 g	8,34 g	1,37 g	6,41 g	0,457 g	0,407 g	0,051 g	77,36	80,74
Prozentische Werte, auf wasserhaltiges Material berechnet							2,17%	2,06%	3,69%		
Prozentische Werte, auf trockene Substanz berechnet							5,23%	4,88%	12,44%		

In 41,769 g des in 6 Tagen verzehrten Brotes sind enthalten:

Eiweiß	=	2,518 g =	10,324 Cal.
Fett	=	0,239 g =	2,326 Cal.
Stärke	=	21,498 g =	88,142 Cal.
		Summa =	100,792 Cal.

Die Energiezufuhr betrug in 6 Tagen 100,79 Cal., entsprechend 0,795 Cal. pro Gramm und pro die, resp. 33,13 Cal. pro Kilo Tier und Stunde.

Mittelwerte des Fettgehaltes, der Jodzahl des Fettes und der Calorienzufuhr.

Versuchsreihe XIV	Körpergewicht		Gesamtfett		Leichenfett		Leberfett		Jodzahl des		Calorien pro Kilo und Stunde
	feucht g	trocken g	feucht %	trocken %	feucht %	trocken %	feucht %	trocken %	Leichenfettes	Leberfettes	
B	23,45	9,703	2,494	6,039	2,439	5,792	3,435	11,40	77,98	81,32	33,41
A	21,12	8,743	2,165	5,230	2,058	4,877	3,689	12,44	77,36	80,74	33,13
Mittel . .	22,29	9,223	2,330	5,635	2,249	5,335	3,562	11,92	77,67	81,03	33,27

Vergleichende Tabelle über Fettgehalt, Jodzahl des Fettes und Calorienzufuhr der mit Brot gefütterten Mäuse mit oder ohne Phosphorvergiftung.

Brotfütterung mit oder ohne P-Vergiftung	Trockensubstanz in Proz. der feuchten Materialien		In Proz. der feuchten Materialien			In Proz. der Trockensubstanz			In Proz. des Gesamtfettes		Calorien pro Kilo und Stunde
	Leichen	Leber	Gesamtfett	Leichenfett	Leberfett	Gesamtfett	Leichenfett	Leberfett	Leichenfett	Leberfett	
Versuchsreihe XIII (Fütterung ohne P-Vergiftung)	43,68	34,14	14,38	15,05	4,726	33,40	34,46	14,01	97,88	2,12	33,23
Versuchsreihe XIV (Fütterung mit P-Vergiftung)	42,15	29,47	2,330	2,249	3,562	5,635	5,335	11,92	90,48	9,52	33,27

Setze ich wiederum die prozentischen Fettwerte sowie die Calorienzufuhr bei normaler Ernährung = 100 und rechne ich die hierzu entsprechenden Werte bei P-Vergiftung nochmals prozentisch aus, so resultiert folgender Unterschied:

Brotfütterung	Auf feuchte Materialien bezogen		Auf Trockensubstanz bezogen		Leberfett in Proz. des Gesamtfettes	Calor. pro Kilo Tier und Stunde
	Gesamtfett %	Leberfett %	Gesamtfett %	Leberfett %		
VersuchsreiheXIII (ohne P-Vergiftg.)	100	100	100	100	100	100
VersuchsreiheXIV (mit P-Vergiftg.)	16,2	75,4	16,9	85,1	449	100
Differenz	−83,8	−24,6	−83,1	−14,9	+349	±0

Die Resultate dieser Versuchsreihen stimmen mit denjenigen der vorhergehenden vollkommen überein. Eine außerordentlich starke, über 83% des normalen Wertes betragende Steigerung der Fettzersetzung, die infolge der P-Vergiftung bei Kohlenhydratzufuhr hervorgerufen wird, hat sich nunmehr als feststehende Tatsache erwiesen. Denn es änderte sich am Resultate nichts, ob man bei dem Vergleiche den Fettgehalt auf feuchtes Gewebe oder auf die Trockensubstanz derselben berechnet. Merkwürdig und interessant ist dabei der Befund, daß die Mäuse für die Gewichtseinheit berechnet bei der P-Vergiftung genau ebensoviel Energie aus dem vorgelegten Brote konsumiert haben, wie bei der normalen Ernährung ohne P-Vergiftung, obwohl die vergifteten Tiere 14,7 bis 16.7% an Gewicht einbüßten. Die Energiezufuhr betrug in beiden Fällen rund 33 Calorien pro Kilo Tier und pro Stunde. Dieser Energiebedarf für die Mäuse erscheint allerdings etwas zu hoch, denn Desplats[1]) fand für Ratten eine Wärmeproduktion von 11,3, für Meerschweinchen eine solche von 12,45 und für Sperlinge eine solche von 34,5 Calorien pro Kilo und Stunde. Indessen schwankte die Zimmertemperatur bei meiner Versuchszeit wegen der Winterkälte zwischen 7 bis 9° C und das Gewicht der Tiere betrug pro ein Paar Mäuse durchschnittlich 25 g. Die Tanzmäuse sind überhaupt gegen Temperaturschwankungen sehr empfindlich. Wird die Umgebungstemperatur niedrig, so werden sie ganz ruhig und führen keine Bewegungen aus. Steigt die Temperatur zur geeigneten Höhe an, so werden sie sehr munter und führen allerlei lebhafte Bewegungen aus. Der von uns beobachtete hohe Energiebedarf der Mäuse ist zwanglos auf die niedrige Temperatur der Beobachtungszeit und auf die Kleinheit der Tiere zurückzuführen.

Wie in der Einleitung kurz erwähnt, hat G. Rosenfeld öfters die Ansicht ausgesprochen, daß die infolge der P-Vergiftung entstandene Fettleber durch Glykogenbildner nicht beseitigt werden kann, weil bei der P-Vergiftung trotz der Zufuhr von Glykogenbildner kein Glykogen in der Leber gebildet wird. Demnach soll die P-Fettleber nach Rosenfeld in dieser Hinsicht eine Ausnahmestellung insofern einnehmen, weil diejenige Fettleber, die durch andere Gifte, wie Phlorizin, Arsen, Chloroform, Alkohol, Oleum Pulegii usw. hervorgerufen wird, durch Glykogenbildner prompt beseitigt werden kann.

Wenn auch soviel sichergestellt zu sein scheint, daß bei der P-Vergiftung trotz der Zufuhr von Glykogenbildnern kein Glykogen in der Leber entsteht, so erwies sich dagegen die Angabe von Rosenfeld, daß die P-Fettleber durch Glykogen-

[1]) Desplats, Vergleichende Physiologie der Haustiere von W. Elenberger. Teil II, S. 103. Im Kapitel „Tierische Wärme" beschrieben von T. Terg.

bildner nicht beseitigt werden kann, nach meinen Untersuchungen als nicht berechtigt. Denn es entsteht überhaupt keine Fettleber bei P-Vergiftung, wenn man die Tiere mit Brot füttert. Wie in der Tabelle angegeben, beträgt die Menge des Leberfettes bei P-Vergiftung mit Brotzufuhr nur 70 bis 85% des Normalwertes, d. h. derjenigen bei Brotfütterung ohne P-Vergiftung. Da indes auch in diesen Fällen eine unverkennbare Fettwanderung nach der Leber hin stattfindet, so kann der Vorgang so gedeutet werden. Bei gleichzeitiger Einverleibung von Phosphor- und Glykogenbildnern wird nicht bloß das präformierte, sondern auch das eingewanderte Fett in der Leber durch die unbekannte Wirkung des Kohlenhydrates rasch zur Oxydation gebracht. Infolgedessen kommt der merkwürdige Befund zustande, daß hier nicht bloß keine Fettleber entsteht, sondern überhaupt eine abnorm starke Herabsetzung des Gesamtfettes verursacht wird.

Hauptresultate dieser Untersuchungen.

1. Die bisher vielfach diskutierte Frage der Fettbildung aus Eiweiß infolge der P-Vergiftung ist durch die erneuten Untersuchungen an Fröschen und Tanzmäusen mittels der einwandfreien Fettbestimmungsmethode nach Kumagawa-Suto nunmehr dahin entschieden worden, daß kein Fett aus Eiweiß gebildet wird.

2. Sowohl bei Fröschen wie bei Mäusen fand infolge der P-Vergiftung trotz starker Herabsetzung des Gesamtfettes eine beträchtliche Vermehrung des Leberfettes statt. Hierdurch ist der sichere Nachweis erbracht worden, daß die Entstehung der Fettleber infolge der P-Vergiftung nicht durch die Fettneubildung, sondern lediglich durch die Wanderung des Fettes von anderen Orten nach der Leber hin zustande kommt. Zu bemerken ist hierbei, daß die Größe der Fettzersetzung der hungernden Mäuse bei der P-Vergiftung meist etwas kleiner ist als bei reiner Inanition ohne P-Vergiftung. Während die Menge des Gesamtfettes bei reiner Inanition auf die Hälfte des Normalwertes sank, betrug der Fettgehalt der Mäuse bei der mit P-Vergiftung kombinierten Inanition von gleicher Dauer noch 50 bis 65% des Normalwertes, d. h. des Fettgehaltes der normal ernährten Mäuse. Demnach scheint die Fettzersetzung bei hungernden

P-Mäusen mit der Wirkung des Phosphors keinen direkten Zusammenhang zu haben. Etwas anders gestaltet sich dieses Verhalten bei Fröschen. Bei ihnen fand infolge der P-Vergiftung eine um 18 bis 50% des Normalwertes betragende Abnahme des Gesamtfettes mit gleichzeitiger Zunahme des Leberfettes um 30% statt, wenn man den Fettwert der nur mit Wasser versorgten Frösche als Normalgröße zugrunde legt. Streng genommen ist dieser Vergleich zwar nicht ganz einwandfrei, aber es läßt sich bei Fröschen in dieser Hinsicht kein so exakter Vergleich anstellen wie bei den Mäusen, weil man keine Methode kennt, die Frösche in normaler Weise zu ernähren.

3. Sowohl bei Fröschen wie bei Mäusen fand bei der P-Vergiftung ein mäßiger Verlust von Stickstoff statt, dessen Größe jedoch die Hungerwerte nicht übertraf.

4. Das Fett, das infolge der P-Vergiftung nach der Leber hin wandert, stammt vom Unterhautdepot ab. Dies wurde durch die Injektion eines gut markierten Fettes (Lebertran) auf die schönste Weise und ganz unzweideutig festgestellt. Der den Mäusen subcutan injizierte Lebertran, der im Laufe von 5tägiger Inanition fast gar nicht resorbiert wird, wandert infolge der P-Vergiftung ganz prompt in die Leber. Dies wurde dadurch bewiesen, daß sich das Verhalten der Jodzahl zwischen Leichen- und Leberfett der hungernden Lebertranmäuse durch die P-Vergiftung mit einem Schlage gänzlich umdreht.

5. Ganz merkwürdig und überraschend ist die außerordentlich starke Fettzersetzung der in normaler Weise mit Brot ernährten Mäuse infolge der P-Vergiftung. Während bei reiner Inanition die Fettabnahme rund 50% des Normalwertes betrug, sank der Fettgehalt der Mäuse bei Brotzufuhr infolge der P-Vergiftung auf rund 16% herab, d. h. es hat hier eine Herabsetzung des Gesamtfettes um 84% des Normalwertes stattgefunden. Daß trotz dieser starken Fettzersetzung hier doch noch eine Fettwanderung nach der Leber hin stattgefunden hat, geht aus dem Befunde mit Sicherheit hervor, daß die prozentische Verteilung des Leberfettes zum Gesamtfett um das $4^1/_2$fache gestiegen ist als bei normaler Verteilung. Der wirkliche Fettgehalt der Leber hat hier indes um 15 bis 30% des normalen Leberfettgehaltes abgenommen. Ebenso merkwürdig ist hierbei der Befund, daß die Mäuse bei der Phosphorvergiftung aus

dem vorgelegten Brote fast ebensoviel Energie aufnahmen, wie bei der normalen Brotfütterung ohne P-Vergiftung. In beiden Fällen betrug die Energiezufuhr rund 33 Calorien pro Kilo Tier und pro Stunde.

6. Die öfters ausgesprochene Ansicht von Rosenfeld, daß die P-Fettleber allein ausnahmsweise durch die Zufuhr von Glykogenbildner nicht beseitigt werden soll, hat sich nach meinen Untersuchungen als Irrtum erwiesen, denn es entsteht bei Mäusen infolge der P-Vergiftung überhaupt keine Fettleber, wenn man dieselben sowohl vor wie nach der Vergiftung mit Brot füttert. Da indes auch in diesen Fällen eine unverkennbare Fettwanderung nach der Leber hin stattfindet, so kann der Vorgang folgendermaßen gedeutet werden. Bei gleichzeitiger Einverleibung von Phosphor und Glykogenbildnern wird nicht bloß das präformierte, sondern auch das eingewanderte Fett in der Leber durch die unbekannte Wirkung des Kohlenhydrates rasch zur Oxydation gebracht. Infolgedessen kommt der merkwürdige Befund zustande, daß hier nicht bloß keine Fettleber entsteht, sondern überhaupt eine abnorm starke Zersetzung des Gesamtfettes verursacht wird.

7. Nach dem Angeführten steht es nunmehr unzweifelhaft fest, daß sowohl bei hungernden wie bei normal ernährten Tieren infolge der P-Vergiftung eine massenhafte Wanderung des Fettes vom Unterhautdepot nach der Leber hin stattfindet. Ebenso steht es fest, daß die Fähigkeit der Fettzersetzung des Organismus bei der P-Vergiftung ganz merkwürdigerweise durch die Kohlenhydratzufuhr außerordentlich stark zunimmt, entsprechend den Angaben von Kraus und Sommer. Wie man indessen diese beiden hochinteressanten Stoffwechselvorgänge zu erklären hat, darüber hat man zurzeit leider noch keinen sicheren Anhaltspunkt.

8. Als Nebenresultat hat sich ergeben, daß die typische Farbenreaktion des Lebertrans mittels konzentrierter Schwefelsäure nicht dem Tranfette selber eigentümlich ist, sondern durch hartnäckige Beimengung eines unbekannten Lipochroms bedingt ist.

Hypothesen zur Entstehung der Fettwanderung.

Da die Aufstellung der Hypothesen Veranlassung zur weiteren Fragestellung und zu neuen Experimenten gewisser-

maßen nützlich zu sein scheint, so führe ich im folgenden einige Hypothesen an.

Hypothese von G. Rosenfeld:[1])

„Wird die Zelle von irgendeiner Noxe getroffen, so werden einzelne Moleküle des Zelleibes oder Eiweißes außer Funktion gesetzt. Um trotzdem auf gleicher Höhe der Leistung zu bleiben, erhöht die Zelle ihre Spannkräfte durch Oxydation aller Kohlenhydrate, deren sie habhaft wird, oder sie vermehrt ihren Eiweißbestand durch Aufnahme von Eiweiß, wenn ihr der Bezug von Kohlenhydraten verwehrt ist oder nicht ausreicht. Stehen alle diese Sparmittel für das Zelleiweiß nicht zur Verfügung oder reichen sie nicht aus, so greift die Zelle zum letzten Hilfsmittel. Sie sucht durch Heranziehung von Fett in erhöhtem Maße ihre Spannkraftvorräte zu ergänzen. Gelingt es dann der Zelle, des Giftes Herr zu werden, so hat sie mit Hilfe der fettigen Regeneration gesiegt; wenn auch das nicht hilft, so stirbt sie den Heldentod; es tritt trotz der fettigen Infiltration die Degeneration ein."

Rosenfeld[2]) hat die Tatsache festgestellt, daß Vergiftungen mit Phlorizin, Alkohol, Chloroform, Phosphor usw. oder Pankreasexstirpation beim hungernden Organismus Fettleber erzeugen und sie des Glykogens berauben, daß aber gleichzeitige Verabfolgung von Kohlenhydraten genügt, die Verfettung aufzuheben (nach R. P-Fettleber ausgenommen). Zur Erklärung dieses Befundes hat Rosenfeld zwar keine besondere Hypothese aufgestellt, drückt aber das Bild dieses Vorganges mit Worten aus: „die Fette verbrennen im Feuer der Kohlenhydrate". Da indes mit diesem Ausdruck nichts über die Ursache aufgeklärt ist, warum das Fett bei Zufuhr von Kohlenhydrat so leicht verbrannt wird, so hat Rosenfeld neuerdings als Veranlassung zur leichten Fettverbrennung irgendeine Paarung zwischen Fett- und Kohlenhydrat, also etwa eine Glukosidbildung, angenommen.

Eine andere von Prof. Kumagawa noch nicht veröffentlichte Hypothese wird hier mit Zustimmung des Autors mitgeteilt:

Nach Kumagawa tritt die Wanderung von Depotfett nach der Leber hin nicht nur pathologisch, sondern auch physiologisch dann auf, wenn aus irgendeiner Ursache die Produktion der Energie zur Erhaltung des normalen Stoffwechsels nicht

[1]) G. Rosenfeld, Fettbildung. Ergebn. d. Physiol. 2, 184, 1903.

[2]) G. Rosenfeld, Verfettungsfragen. Verhdl. d. Kongr. f. innere Med. 24, 1907.

ausreicht und zur Ergänzung derselben Heranziehung von Depotfett notwendig wird. Demnach ist die Ursache der Fettwanderung nach Kumagawa ganz allgemein eine mangelhafte Energieproduktion im Organismus, die entweder von ungenügender Nahrungszufuhr oder von mangelhafter Oxydation infolge von Vergiftungen usw. bedingt sein kann. Die Notwendigkeit dieses Vorganges läßt sich nun darauf zurückführen, daß das Depotfett, wenn es in anderen Orten vollständig zu seinen Endprodukten (Kohlensäure und Wasser) oxydiert werden soll, einmal die Leber passieren und dort eine gewisse Veränderung erleiden muß. Wie das Fett in der Leber verändert wird, ist zwar nicht sicher bekannt. Aber es kann als das wahrscheinlichste so aufgefaßt werden, daß die nach der Spaltung des Neutralfettes auftretenden gesättigten Fettsäuren, wie Palmitin- und Stearinsäure, wie nach der Ansicht von Leathes[1]), erst in die der ungesättigten Reihen, wie Ölsäure-, Linolsäure- resp. Linolensäurereihe, übergeführt werden und dieselben dann in niedrigere Fettsäuren gespalten werden, die schließlich in Form von Triglyceriden, vor allem als Tributyrin, die Leber verlassen. Die Wahrscheinlichkeit, daß sich die Oxydation des Fettes im Organismus erst nach der Umwandlung in Tributyrin vollzieht, wird darin erblickt, daß das letztere bekanntlich reichlich im Milchfett enthalten ist, um wohl ohne Zuhilfenahme der Leberfunktion im Organismus der Säuglinge leicht und vollständig oxydiert zu werden.

Tritt die Fettwanderung bei wohlerhaltener Funktion der Leberzellen auf, so wird das eingewanderte Fett auf die beschriebene Weise in der Leber verarbeitet und seine Umwandlungsprodukte (Triglyceride niederer Fettsäuren) verlassen bald die Leber. Darum kommt bei gesunder Leber trotz reichlicher Zuströmung des Fettes keine Fettleber zustande.

Bei Vergiftungen kommt dagegen Fettleber dadurch zustande, daß das eingewanderte Fett in der Leber nicht nor-

[1]) Leathes nimmt an, daß für die Oxydation des Fettes die hochmolekularen Fettsäuren erst in der Leber in die ungesättigten umgewandelt werden, um an anderen Orten an ihren ungesättigten Bindungsstellen gespaltet und durch weitere sukzessive Oxydation zu ihren Endprodukten verbrannt zu werden. Vgl. The Fas: by J. B. Leathes, London 1910, S. 115.

malerweise verarbeitet wird und daher dort zur abnormen Ablagerung kommt, weil die Umsatzfähigkeit der Leber für das Fett infolge der Vergiftung beeinträchtigt ist, und zwar entweder direkt durch die gestörte Funktion der Leberzellen selbst oder indirekt durch die abnorme Anhäufung der Säuren oder gar durch die Kombination der beiden Momente. Hiernach ist die Entstehung der Fettleber bei Vergiftungen leicht erklärlich.

Das Zustandekommen der abnorm starken Fettzersetzung der Phosphortiere infolge der Kohlenhydratzufuhr wird nach Kumagawa folgendermaßen erklärt: In allerneuester Zeit haben E. Neubauer und O. Porges[1]) gefunden, daß das Wesen der P-Vergiftung hauptsächlich auf die Nebenniereninsuffizienz mit Aufhebung der Adrenalinproduktion beruht. Der Kohlenhydratstoffwechsel im Organismus wird nach der modernen Anschauung durch das Zusammenwirken der inneren Sekretionen (Hormonbildung) von Nebennieren, Pankreas und Schilddrüse geregelt. Wird die innere Sekretion des Pankreas aufgehoben (Pankreasexstirpation), so tritt bekanntlich Diabetes mellitus auf, weil, wie ersichtlich, die hemmende Wirkung der übrigen Hormone gegen die Zuckeroxydation das Übergewicht erlangt. Wird dagegen die Produktion von Adrenalin infolge der Nebenniereninsuffizienz aufgehoben, so tritt gerade das Gegenteil ein, d. h. das Kohlenhydrat wird abnorm stark zersetzt. Damit stimmt in der Tat die Wirkung des Phosphors insofern gut überein, daß bei P-Vergiftung Leberglykogen und Blutzucker rasch verschwinden. Ob hierbei das Kohlenhydrat vollständig bis zu den Endprodukten oxydiert wird und seine volle Energie zur Geltung kommt, ist indessen eine offene Frage. Viel wahrscheinlicher erscheint, daß das Kohlenhydrat in Ermangelung der Adrenalinwirkung sich zwar rasch zersetzt, daß aber seine Zersetzungsprodukte zum Teil auf Zwischenstufen stehen bleiben, so daß der Calorienwert des zugeführten Kohlenhydrats nicht zur vollen Geltung kommt. Nach dieser Voraussetzung kann man also den Vorgang folgendermaßen erklären: Werden die Phosphortiere mit kohlenhydratreicher Nahrung gefüttert, so tritt das resorbierte

[1]) E. Neubauer und O. Porges, Über Nebenniereninsuffizienz bei Phosphorvergiftung. Diese Zeitschr. 32, 290, 1911.

Kohlenhydrat wegen Ermangelung der Adrenalinwirkung rasch in den Zerfall ein. Doch reicht die hierdurch produzierte Energie für den gewünschten Calorienbedarf nicht aus, weil das Kohlenhydrat eben nicht vollständig oxydiert wird. Infolgedessen findet eine massenhafte Wanderung des Fettes nach der Leber hin statt. Trotzdem verschwindet das eingewanderte Fett in der Leber rasch und kommt dort nicht zur Ablagerung, weil die fettzersetzende Funktion der Leber trotz der P-Vergiftung dadurch auf der normalen Höhe erhalten bleibt, daß die Spaltprodukte des zugeführten Kohlenhydrats entweder die schädigende Wirkung des Phosphors gegen die Leberzellen direkt aufheben oder abnorm angehäufte Säuren neutralisieren. Es ist möglich, daß die Bildung des Tributyrins, die bei Abwesenheit von Kohlenhydrat wegen Mangel der Glycerinkomponente nicht glatt vonstatten geht, hier infolge der reichlichen Kohlenhydratzufuhr begünstigt wird. Da bei P-Vergiftung einerseits das zugeführte Kohlenhydrat nicht imstande ist, seinen vollen Energiewert zu entfalten, während andererseits die Fettwanderung und die Fettzersetzung, welche letztere durch die Kohlenhydratspaltung begünstigt wird, so lange andauern, bis die Energieproduktion den Bedarf des Organismus deckt, so kommt als Endresultat eine außerordentlich starke Herabsetzung des Gesamtfettes der Phosphortiere bei Kohlenhydratzufuhr zustande. Positive Tatsachen, die zur Stütze dieser Hypothese dienen, sind allerdings zurzeit noch dürftig. Erst die Zukunft kann zeigen, inwieweit diese Hypothese im Grundprinzip sich bewahrheiten wird.

Vergleichende histologische und chemische Untersuchungen über den Fettgehalt der inneren Organe.

Von

Nagamichi Shibata und Shigekiyo Endo.

(Aus dem medizinisch-chemischen und dem pathologischen Institut der Universität Tokio.)

(Eingegangen am 29. August 1911.)

In neuerer Zeit ist von verschiedenen Seiten die Ansicht vertreten worden, daß die histologische Schätzung des Fettgehaltes der inneren Organe über den wahren Wert desselben keinen Anhaltspunkt liefert, weil man häufig zu dem gerade entgegengesetzten Resultate gelangt von dem, was man auf chemischem Wege festgestellt hat.

In bezug auf den Fettgehalt der Nieren sagt unter anderen G. Rosenfeld[1]) folgendes: „Man kann sagen, daß von den ca. 18% Fett der normalen Menschenniere so gut wie nichts zu sehen ist; aber es gibt pathologische Nieren von 18%, die stark verfettet erscheinen, wie es pathologische Nieren mit über 23% Fett gibt, die mikroskopisch ihren Fettgehalt nicht im geringsten ahnen lassen. Daraus folgt, daß man sich durchaus nicht auf den mikroskopischen Fettbefund verlassen kann, sondern seine Zuflucht ausschließlich zur chemischen Analyse nehmen muß. Die Beantwortung dieser Frage (der Nierenverfettung) auf die mikroskopische Fettschätzung zu gründen, ist bei dem bisherigen Stande unserer Fettmikroskopie trotz Sudan und Fettponceau ausgeschlossen." Die Untersuchungen von Rumpf sowie von Rumpf und Dennstedt[2])

---

[1]) G. Rosenfeld, Frage der Fettbildung. Verhdl. d. Deutsch. pathol. Ges. 1903. — Derselbe, Fettbildung. Ergebnisse d. Physiol. 2, 1.

[2]) Rumpf und Dennstedt, Weitere Untersuchungen über die chemische Zusammensetzung des Blutes und verschiedener menschlicher Organe. Zeitschr. f. klin. Med. 58, 1906.

über den Fettgehalt von Herzen und Lebern bestätigten im ganzen die Ansicht von Rosenfeld. Auch A. Orgler[1]) fand bei Nieren mit viel sichtbarem Fett nach der chemischen Untersuchung einen Fettgehalt von nur 13,129%, während diejenigen ohne sichtbare Fetttropfen einen viel höheren Fettgehalt von 17,758% aufwiesen. Demgegenüber stehen die Resultate der Untersuchungen von Landsteiner und Mucha[2]). Die beiden Autoren fanden bei Phosphorvergiftung, Diabetes mellitus und Nephritikern eine dem mikroskopischen Befunde entsprechende erhebliche Zunahme des Fettgehaltes der Nieren. Auch Löhlein[3]) gelangte zu demselben Resultate. Klemperer[4]) konnte einerseits bei Diabetes, Lungenphthise und chronischer Nephritis zwar eine mit dem mikroskopischen Befund parallel gehende Vermehrung des Ätherextraktes konstatieren. Aber derselbe hat andererseits auch die gerade entgegengesetzte Beobachtung gemacht, daß die Nieren bei perniziöser Anämie und Sublimatvergiftung, sowie gichtische Schrumpfniere, die sämtlich von Pathologen als hochgradige Verfettung diagnostiziert worden sind, nach der chemischen Untersuchung vielmehr eine Verminderung des Ätherextraktes zeigten. Ähnliche Beobachtungen hat neuerdings auch A. Dietrich[5]) gemacht. Während bei den meisten von ihm untersuchten Nieren ihr Fettgehalt mit dem mikroskopischen Befunde gut übereinstimmte, fand derselbe in zwei Fällen von Schwellnieren trotz reichlich sichtbaren Fettes doch eine Verminderung des Fettgehaltes.

Wie aus dieser Betrachtung hervorgeht, sind die Ansichten über den vermeintlichen Widerspruch zwischen der histologischen Schätzung und der chemischen Bestimmung der Organfettmenge noch geteilt. Diejenigen Autoren, die diesen Widerspruch als die Regel ansehen, führen die Ursache desselben darauf zurück, daß derjenige Teil des Fettes, der im normalen Zustande der Organe für die mikroskopische Untersuchung unsichtbar ist, infolge der pathologischen Veränderung (Verfettung) sich in die sichtbare Form umwandelt, obwohl die Fettmenge selber unverändert geblieben ist. Daß dieses sogenannte Sichtbarwerden des Organfettes trotz gleichen Fett-

---

[1]) A. Orgler, Chemische Nierenuntersuchungen mit Berücksichtigung des histologischen Bildes. Virchows Arch. 176, 1904.

[2]) Landsteiner und Mucha, Über Fettdegeneration der Nieren. Centralbl. f. allgem. Pathol. 15, 1904.

[3]) Löhlein, Über Fettinfiltration und fettige Degeneration der Nieren. Virchows Arch. 180, 1909.

[4]) Klemperer, Über Verfettung der Nieren. Deutsche med. Wochenschr. 1909.

[5]) A. Dietrich, Die Störungen des cellulären Fettstoffwechsels. Lubarsch-Ostertag, Ergebnisse d. allgem. Pathol. 1910.

gehaltes in der Tat vorkommt, ist bei dem Vorgange der Autolyse von Kraus, K. Ohta[1]) und N. Shibata[2]) mit Sicherheit erwiesen worden. Wie Dietrich auch hervorhebt, darf indes die Autolyse der aseptisch aufbewahrten Organe nicht ohne weiteres mit der intravitalen Verfettung identifiziert werden. Vielmehr ist es sehr fraglich, ob sich das normal unsichtbare Organfett bei der Degeneration der Organe intra vitam in die sichtbare Form umwandelt. Andererseits sind die meisten oben zitierten Untersuchungen mit denjenigen Fettbestimmungsmethoden angestellt worden, die einen Fehler von 10 bis 40% des wahren Fettgehaltes verursachen. Bei dieser Sachlage erschien es uns sehr wünschenswert, die Frage mittels einer einwandfreien Methode von neuem zu prüfen. Zu diesem Zwecke haben wir im folgenden streng vergleichende Untersuchungen ausgeführt, indem wir uns (Vertreter der Pathologie und Chemie) vereinigten, indes derart, daß wir bis zum Abschluß der Untersuchungen gegenseitig von den Resultaten nichts wußten und die betreffenden Organe inzwischen bloß mit den Nummern markierten.

Es sind im ganzen 33 Nieren und 27 Lebern mit oder ohne degenerative Veränderung in den Kreis unserer Untersuchungen herangezogen worden. Die Organe stammten von verschiedenen Leichen aus dem hiesigen pathologischen Institut. Die histologischen Untersuchungen wurden von Endo unter Benutzung von Sudan III, Scharlachrot, Neutralrot, Osmiumsäure, Nilblausulfat und Polarisationsmikroskop ausgeführt. Die Fettsubstanzen sind hauptsächlich nach Aschoff[3]) klassifiziert worden. In bezug auf die Gesamtfettmenge sind die untersuchten Organe histologisch in 3 Kategorien geteilt worden, nämlich in Grad 1 mit geringem, Grad 2 mit mäßigem und Grad 3 mit reichlichem Fettgehalt. Um die Trennung der Gruppen möglichst einwandfrei zu erzielen, sind von den einzelnen mikroskopischen Befunden Skizzen entworfen und mit-

---

[1]) K. Ohta, Über das Verhalten des Organfettes bei der Autolyse und antiseptischem Aufbewahrem. Diese Zeitschr. 29, 1910.

[2]) N. Shibata, Das Verhalten des Fettes tierischer Organe bei antiseptischer Aufbewahrung. Diese Zeitschr. 31, 1911.

[3]) Aschoff, Zur Morphologie der lipoiden Substanzen. Zieglers Beiträge 47.

einander in Vergleich gestellt worden. Alle Fettbestimmungen wurden von Shibata nach der Kumagawa-Sutoschen Verseifungsmethode ausgeführt. Die Zahl der Einzelbestimmungen von Petrolätherextrakten, hochmelekularen Fettsäuren und unverseifbaren Substanzen ist auf je 120 hinausgelaufen. Die Organstücke wurden mittels Hackmaschine dreimal zerhackt, gut gemischt; von dem feinen Brei wurde eine bestimmte Menge zur Fettbestimmung benutzt. Es sind stets Doppelanalysen ausgeführt worden. Es sei hier ausdrücklich betont, daß sowohl bei der chemischen wie bei der histologischen Untersuchungen der Nieren diejenige Markhälfte, die dem Nierenbecken zugekehrt ist, nach Kapselabziehung ganz entfernt worden ist, um die Beimengung des Fettgewebes vom Nierenbecken auszuschließen.

Die Resultate der Untersuchungen und alle einzelnen Daten sind in die folgenden zwei Haupttabellen eingetragen worden. Die prozentischen Angaben in den Tabellen beziehen sich auf die feuchten Organe.

Wie aus den Tabellen hervorgeht, stimmen die Resultate der histologischen Schätzung und der chemischen Fettbestimmung außer wenigen Ausnahmefällen im allgemeinen insofern sehr gut überein, daß in denjenigen Fällen, die histologisch als fettreich gefunden worden sind, die Zahlen der Petrolätherextrakte bzw. der hochmolekularen Fettsäuren ebenfalls sehr hoch sind, und ganz ebenso in denjenigen mit wenig sichtbaren Fettsubstanzen die Fettzahlen nach den chemischen Untersuchungen auch sehr klein sind.

Von dieser allgemeinen Übereinstimmung nehmen indes Leber 1 und Niere 8 unter anderen eine Ausnahmestellung ein. Daher müssen sie hier besonders besprochen werden. Nach der Tabelle enthielt Leber 1 4,1% Petrolätherextrakt, während sie nach der histologischen Untersuchung nur wenig Fett wahrnehmen ließ und daher beim Grad 1 aufgezählt worden ist. Dieser Widerspruch ist aber dadurch leicht erklärlich, daß sich dieser Fall gerade um eine hochgradige braune Atrophie handelte, und ein Teil des Fettes, der im Pigmente selber enthalten ist, wohl deshalb der mikroskopischen Schätzung entging, weil das Pigment wegen der geringeren Färbbarkeit nicht

Tabelle I.

Fettgehalt der Leber.

[Die Reihenfolge der einzelnen Organe in den Tabellen (Leber und Nieren) ist erst nach dem Abschluß der Untersuchungen ungefähr nach ihrem Fettgehalte zusammengestellt worden.]

Nr.	Alter	Hauptleiden	Histologische Befunde						Resultate der Analyse (Durchschnittszahlen)		
			Degenerative Veränderung	Neutralfett	Anisotropes Lipoid	sog. postmortale Myeline	Lipoidhaltiges Pigment	Gesamtmenged. Fettsubstanzen	Petrolätherextrakte %	Hochmolekulare Fettsäuren %	Unverseifbare Substanzen %
1*	57 J.	Magenkrebs	—	—	—	—	+++	sehr gering	4,100	2,963	1,137
2	14 „	Pleuropericarditis	—	+	—	—	—	„	3,261	2,771	0,4910
3	39 „	Magenkrebs	—	+	—	—	+	„	2,763	2,160	0,6025
4	30 „	Lungen- u. Darmtuberkulose	+	+	—	—	+	„	2,090	1,712	0,3783
5	39 „	Aortenaneurysma	—	+	—	—	—	„	1,418	0,866	0,5521
6	9M.	Gastroenterocolitis	—	+	—	—	—	mäßig	3,009	2,595	0,4144
7	29 J.	Kakke, Typhus abdominalis	+	+	—	—	—	„	3,435	2,618	0,8070
8	63 „	Chron. Nephritis, Blasenstein	—	+	—	—	—	„	3,111	2 562	0,5488
9	57 „	Magenkrebs	—	+	—	—	—	„	4,496	4,044	0,4519
10	53 „	„	+	+	—	—	+	„	2,918	2,379	0,5388
11	44 „	Perforationsperitonitis	+	+	—	—	—	„	3,277	2,864	0,4134
12	41 „	Verblutung	+	+	—	+	—	„	3,073	2,584	0,4882
13	27 „	Darmtuberkulose, Peritonitis	—	+	—	—	—	„	3,758	3,361	0,3972
14	33 „	Käsige Pneumonie	+	+	—	+	—	„	5,323	4,824	0,4995
15	26 „	Lungentuberkulose	+	+	+	—	—	„	4,618	4,187	0,4811
16	2 „	Angeborene Syphilis	+	+	+	—	—	„	3,229	2,670	0,5584
17	33 „	Perforationsperitonitis	+	+	+	—	—	„	3,831	3,378	0,4534
18	42 „	Verblutung	+	+	+	—	—	reichl.	6,219	5,752	0,4671
19	30 „	Eklampsia gravidarum	++	+	—	+	—	„	4,804	4,189	0,9150
20	14 „	Salpetersäurevergiftung	+	+	—	+	—	„	5,675	5,163	0,5123
21	66 „	Ösophaguskrebs	++	+	+	+	—	„	12,16	11,27	0,8954
22	32 „	Herzklappenfehler	+	+	+	—	—	„	9,251	8,370	0,8816
23	20 „	Perityphlitis	+	—	—	++	—	„	4,272	3,424	0,8476
24	17 „	„	++	++	+	+	—	„	21,49	20,83	0,6579
25	23 „	Wochenbettfieber, Nephritis	++	+	+	+	—	„	6,940	6,501	0,4395
26	32 „	Traumatische Blutung	++	+	+	—	—	„	6,774	6,239	0,5359
27	29 „	Extrauterine Schwangerschaft, Verblutung	++	+	+	+	—	„	6,177	5,524	0,6532

Bemerkung: * sind Ausnahmefälle; + = mäßig, ++ = stark, +++ = sehr stark.

deutlich als fetthaltig erscheint. Sehr bemerkenswert erscheint bei dieser Leber außerdem noch der Befund, daß die Menge der unverseifbaren Substanzen im Vergleich zu anderen Lebern bedeutend höher ist. Welche Bedeutung dieses Verhalten hat, läßt sich zurzeit nicht aufklären.

Tabelle II.

Fettgehalt der Nieren.

Nr.	Alter	Hauptleiden	Histologische Befunde						Resultate der Analyse (Durchschnittszahlen)		
			Degenerative Veränderung	Neutralfett	Anisotropes Lipoid	sog. postmortale Myeline	Lipoidhaltiges Pigment	Gesamtmenged. Fettsubstanzen	Petroläther-extrakte %	Hoch-molekulare Fettsäuren %	Unverseifbare Substanzen %
1	57 J.	Magenkrebs	—	+	—	—	—	sehr gering	1,581	1,076	0,5051
2	42 „	Chron. Nephritis, Blutung	+	+	—	—	—	„	2,456	1,578	0,8781
3	14 „	Pleuropericarditis	—	+	—	—	—	„	2,088	1,610	0,4776
4	30 „	Magenkrebs	—	+	—	—	—	„	1,981	1,535	0,4459
5	72 „	Ovarialkrebs	+	—	—	+	—	„	1,505	0,990	0,5152
6	61 „	Schrumpfniere, Rectumkrebs	+	+	—	—	—	„	1,280	0,752	0,5270
7	29 „	Kakke, Typhus abdominalis	+	+	—	—	—	„	1,759	1,255	0,4975
8*	39 „	Aortenaneurysma	—	+	—	—	—	„	4,363	3,609	0,7540
9	30 „	Lebercirrhose	—	—	—	—	+	„	2,118	1,648	0,4701
10	30 „	Lungen- u. Darmtuberkulose	—	+	—	—	—	„	1,911	1,442	0,4693
11	27 „	Darmtuberkulose, tuberkulöse Peritonitis	+	—	—	+	—	„	1,633	1,196	0,4371
12	10M.	Tuberkulöse Meningitis	—	+	—	—	—	„	2,102	1,629	0,4732
13	2 J.	Angeborene Syphilis	—	+	—	—	—	„	2,003	1,583	0,4202
14	33 „	Käsige Pneumonie	+	+	—	+	—	„	1,823	1,408	0,4145
15	53 „	Magenkrebs, chron. Nephritis	+	+	—	—	—	„	1,532	1,177	0,3553
16	26 „	Lungentuberkulose	—	+	—	—	—	„	2,167	1,445	0,7219
17	33 „	Perforationsperitonitis	+	+	—	+	—	„	2,535	1,993	0,5422
18	32 „	Herzklappenfehler	—	+	—	—	—	„	1,444	1,061	0,3833
19	41 „	Verblutung (rechte Niere)	+	+	—	+	—	„	1,976	1,467	0,5093
20	41 „	„ (linke „)	+	+	—	+	—	„	2,394	1,484	0,6107
21	9M.	Magen-Darmkatarrh	—	+	—	—	—	mäßig	2,302	1,889	0,4127
22	10 „	Anämie, Magen-Darmkatarrh	—	+	—	—	—	„	2,700	2,323	0,3767
23	57 J.	Magenkrebs	—	+	—	—	—	„	2,565	2,163	0,4125
24	30 „	Eklampsia gravidarum	+	+	—	+	—	„	2,735	2,196	0,5390
25	14 „	Salpetersäurevergiftg. (rechte)	+	+	—	+	—	„	3,088	2,586	0,5624
26	14 „	„ (linke)	+	+	—	+	—	„	4,133	3,550	0,5832
27	23 „	Wochenbettfieber, Nephritis	++	+	+	+	—	„	2,540	2,140	0,4003
28	32 „	Traumatische Verblutung	+	+	—	+	—	„	4,140	3,878	0,2617
29	29 „	Extrauterine Schwangerschaft, Verblutung	+++	+	+	+	—	„	3,095	2,490	0,6045
30	56 „	Schrumpfniere	+	++	—	—	—	reichl.	5,111	5,009	0,1019
31	66 „	Ösophaguskrebs	+	+	—	+	—	„	5,848	5,317	0,5313
32	20 „	Perityphlitis	+	—	—	++	—	„	4,537	4,008	0,5295
33	17 „	Appendicitis, Nephritis	+	++	+	+	—	„	11,16	10,670	0,4910

Auch bei Niere 8 ist die Menge des Petrolätherextraktes im Verhältnis zur histologischen Schätzung relativ zu groß (4,363 %). In diesem Falle handelte es sich um eine Stauungsniere. Der widersprechende Befund scheint demnach mit der Stauung in direktem Zusammenhange zu stehen. Wie man ihn zu erklären hat, wissen wir aber nicht. Somit ist dies der einzige Fall von uns, dessen

Widerspruch unerklärlich bleibt. Hier dürfen wir eine Bemerkung nicht unterlassen: wir begegneten entgegen den Angaben von Lubarsch[1]), Sehrt[2]) und Segawa[3]) bei unseren Untersuchungen nur einer einzigen Niere mit lipoidhaltigem Pigment. Dieser scheinbare Widerspruch ist wohl auf den Umstand zurückzuführen, daß wir, wie erwähnt, nur die äußere Hälfte der Marksubstanz in den Kreis der Untersuchungen gezogen haben.

Um das Hauptresultat dieser Untersuchungen noch ersichtlicher erscheinen zu lassen, haben wir im folgenden eine stark reduzierte Tabelle aus den vorhergehenden Daten dargestellt, indem von den beiden Organen nur die Gesamtdurchschnittszahlen der Fettwerte für die 3 Kategorien zusammengestellt wurden.

Übersichtstabelle.

Art der Organe	Mikroskopische Schätzung des Fettgehaltes	Petrolätherextrakte %	Hochmolekulare Fettsäuren %	Unverseifbare Substanzen (Cholesterin usw.) %
Nieren	Grad I, gering	2,033	1,512	0,5204
	„ II, mäßig	3,033	2,579	0,4614
	„ III, reichlich	6,664	6,251	0,4134
Lebern	Grad I, gering	2,726	2,094	0,6322
	„ II, mäßig	3,673	3,172	0,5052
	„ III, reichlich	8,376	7,726	0,6505

Die prozentischen Werte beziehen sich auf feuchte Organe.

Demnach stimmen die histologischen Befunde des Organfettes mit den chemischen Bestimmungen im allgemeinen insofern sehr gut überein, daß der wahre Fettgehalt der Organe nach der Verseifungsmethode mit der mikroskopischen Schätzung der Gesamtmenge von Fettsubstanzen parallel steigt und fällt. Es hat sich also diejenige Ansicht, die behauptet, daß zwischen der histologischen Schätzung und der chemischen Bestimmung

[1]) Lubarsch, Über fetthaltige Pigmente. Centralbl. f. allg. Pathol. 1902.

[2]) Sehrt, Zur Kenntnis der fetthaltigen Pigmente. Virchows Archiv 177.

[3]) Segawa, Über das Lipoidpigment der Niere. Vortrag, gehalten in der pathologischen Gesellschaft zu Tokio. 1911.

des Fettgehaltes der inneren Organe fast regelmäßig ein auffallender Widerspruch bestehe, im allgemeinen als Irrtum erwiesen.

Anhang.

Analytische Belege zu den Fettbestimmungen der Lebern.

Geschlecht	Nummer	Art des Organs	Menge des Organbreis	Menge des gereinigten Petroläther-extrakts		Menge der hochmolekularen Fettsäuren		Menge des Cholesterins	
				g	%	g	%	g	%
Mann	1a	Leber	6,349	0,2601	4,098	0,1881	2,964	0,0720	1,134
	1b	„	8,610	0,3530	4,101	0,2548	2,961	0,0982	1,140
	Mittel		7,480	0,3066	4,100	0,2215	2,963	0,0851	1,137
„	2a	„	8,911	0,2906	3,261	0,2469	2,771	0,0437	0,4905
	2b	„	9,866	0,3218	3,261	0,2734	2,771	0,0484	0,4905
	Mittel		9,389	0,3062	3,261	0,2602	2,771	0,0461	0,4905
„	3a	„	11,59	0,3202	2,763	0,2504	2,161	0,0698	0,6023
	3b	„	10,82	0,2988	2,762	0,2336	2,159	0,0652	0,6026
	Mittel		11,21	0,3095	2,763	0,2420	2,160	0,0675	0,6025
Weib	4a	„	9,121	0,1906	2,089	0,1561	1,711	0,0345	0,3783
	4b	„	10,42	0,2178	2,090	0,1784	1,712	0,0394	0,3782
	Mittel		9,771	0,2042	2,090	0,1673	1,712	0,0370	0,3783
„	5a	„	5,612	0,0796	1,418	0,0486	0,866	0,0310	0,5524
	5b	„	5,183	0,0735	1,418	0,0449	0,866	0,0286	0,5518
	Mittel		5,398	0,0766	1,418	0,0468	0,866	0,0298	0,5521
Mann	6a	„	9,267	0,2789	3,009	0,2405	2,595	0,0384	0,4142
	6b	„	8,999	0,2707	3,008	0,2334	2,594	0,0373	0,4145
	Mittel		9,133	0,2748	3,009	0,2370	2,595	0,0379	0,4144
„	7a	„	2,841	0,0976	3,435	0,0744	2,618	0,0232	0,8166
	7b	„	3,365	0,1155	3,434	0,0880	2,617	0,0275	0,8174
	Mittel		3,103	0,1066	3,435	0,0812	2,618	0,0254	0,8170
„	8a	„	5,465	0,1700	3,111	0,1400	2,562	0,0300	0,5489
	8b	„	6,252	0,1945	3,111	0,1602	2,562	0,0343	0,5487
	Mittel		5,859	0,1823	3,111	0,1501	2,562	0,0322	0,5488
Weib	9a	„	5,713	0,2568	4,495	0,2310	4,043	0,0258	0,4516
	9b	„	5,927	0,2665	4,496	0,2397	4,044	0,0268	0,4522
	Mittel		5,820	0,2617	4,496	0,2354	4,044	0,0263	0,4519
Mann	10a	„	5,605	0,1636	2,918	0,1334	2,379	0,0302	0,5388
	10b	„	6,514	0,1901	2,918	0,1550	2,379	0,0351	0,5388
	Mittel		6,010	0,1769	2,918	0,1442	2,379	0,0327	0,5388
Weib	11a	„	10,18	0,3335	3,276	0,2914	2,863	0,0421	0,4134
	11b	„	10,16	0,3330	3,278	0,2910	2,865	0,0420	0,4134
	Mittel		10,17	0,3333	3,277	0,2912	2,864	0,0420	0,4134
„	12a	„	8,688	0,2670	3,073	0,2246	2,585	0,0424	0,4881
	12b	„	7,354	0,2257	3,070	0,1898	2,582	0,0359	0,4882
	Mittel		8,021	0,2464	3,072	0,2072	2,584	0,0392	0,4882
„	13a	„	9,461	0,3554	3,757	0,3178	3,360	0,0376	0,3975
	13b	„	5,874	0,2207	3,758	0,1974	3,361	0,0233	0,3968
	Mittel		7,668	0,2881	3,758	0,2576	3,361	0,0305	0,3972
Mann	14a	„	7,724	0,4112	5,323	0,3726	4,823	0,0386	0,4998
	14b	„	7,093	0,3776	5,323	0,3422	4,824	0,0354	0,4991
	Mittel		7,409	0,3944	5,323	0,3574	4,824	0,0370	0,4995
Weib	15a	„	4,948	0,2282	4,613	0,2044	4,232	0,0238	0,4810
	15b	„	5,673	0,2622	4,622	0,2349	4,141	0,0273	0,4812
	Mittel		5,311	0,2452	4,618	0,2197	4,187	0,0256	0,4811

Fortsetzung der vorstehenden Tabelle.

Geschlecht	Nummer	Art des Organs	Menge des Organbreis	Menge des gereinigten Petroläther-extrakts		Menge der hochmolekularen Fettsäuren		Menge des Cholesterins	
				g	%	g	%	g	%
Weib	16a	Leber	8,842	0,2856	3,229	0,2362	2,670	0,0494	0,5586
	16b	„	9,245	0,2985	3,228	0,2469	2,670	0,0516	0,5581
	Mittel		9,044	0,2925	3,229	0,2416	2,670	0,0505	0,5584
Mann	17a	„	6,797	0,2604	3,831	0,2296	3,378	0,0308	0,4531
	17b	„	7,253	0,2778	3,831	0,2449	3,377	0,0329	0,4536
	Mittel		7,025	0,2691	3,831	0,2373	3,378	0,0319	0,4534
„	18a	„	11,88	0,7386	6,218	0,6831	5,751	0,0555	0,4671
	18b	„	11,99	0,7457	6,219	0,6897	5,752	0,0560	0,4670
	Mittel		11,94	0,7422	6,219	0,6864	5,752	0,0558	0,4671
Weib	19a	„	9,402	0,4516	4,804	0,3938	4,189	0,0578	0,6148
	19b	„	8,762	0,4209	4,803	0,3670	4,188	0,0539	0,6152
	Mittel		9,082	0,4363	4,804	0,3804	4,189	0,0559	0,6150
Mann	20a	„	9,023	0,5120	5,675	0,4658	5,163	0,0462	0,5121
	20b	„	8,432	0,4785	5,675	0,4352	5,163	0,0432	0,5124
	Mittel		8,728	0,4753	5,675	0,4505	5,163	0,0447	0,5123
„	21a	„	9,358	1,138	12,16	1,054	11,27	0,0838	0,8954
	21b	„	7,523	0,9147	12,15	0,8473	11,26	0,0674	0,8954
	Mittel		8,441	1,0234	12,16	0,9507	11,27	0,0756	0,8954
Weib	22a	„	5,6010	0,5182	9,251	0,4688	8,369	0,0494	0,8818
	22b	„	6,874	0,6360	9,251	0,5954	8,370	0,0606	0,8814
	Mittel		6,238	0,5771	9,251	0,5221	8,370	0,0550	0,8816
„	23a	„	6,793	0,2902	4,272	0,2326	3,424	0,0576	0,8478
	23b	„	6,443	0,2752	4,271	0,2206	3,424	0,0546	0,8474
	Mittel		6,618	0,2827	4,272	0,2266	3,424	0,0561	0,8476
„	24a	„	6,417	1,378	21,47	1,336	20,81	0,0422	0,6575
	24b	„	6,154	1,324	21,51	1,284	20,85	0,0405	0,6582
	Mittel		6,286	1,351	21,49	1,310	20,83	0,0414	0,6579
„	25a	„	8,236	0,5716	6,940	0,5354	6,501	0,0362	0,4395
	25b	„	6,758	0,4690	6,940	0,4393	6,501	0,0297	0,4395
	Mittel		7,495	0,5203	6,940	0,4874	6,501	0,0330	0,4395
Mann	26a	„	5,043	0,3418	6,778	0,3148	6,243	0,0270	0,5355
	26b	„	5,782	0,3915	6,770	0,3605	6,234	0,0310	0,5362
	Mittel		5,413	0,3667	6,774	0,3377	6,239	0,0290	0,5359
Weib	27a	„	8,146	0,5030	6,176	0,4500	5,523	0,0532	0,6531
	27b	„	9,215	0,5692	6,177	0,5090	5,524	0,0602	0,6532
	Mittel		8,681	0,5361	6,177	0,4795	5,524	0,0567	0,6532

Analytische Belege zu den Fettbestimmungen der Nieren.

Geschlecht	Nummer	Art des Organs	Menge des Organbreis	Menge des gereinigten Petroläther-extrakts		Menge der hochmolekularen Fettsäuren		Menge des Cholesterins	
				g	%	g	%	g	%
Mann	1a	Niere	8,039	0,1271	1,581	0,0865	1,076	0,0406	0,5051
	1b	„	11,36	0,1795	1,581	0,1221	1,076	0,0574	0,5053
	Mittel		9,700	0,1533	1,581	0,1043	1,076	0,0490	0,5052
„	2a	linke N.	6,596	0,1620	2,456	0,1041	1,578	0,0579	0,8778
	2b	„	7,853	0,1929	2,456	0,1239	1,578	0,0690	0,8784
	Mittel		7,225	0,1775	2,456	0,1140	1,578	0,0635	0,8781
„	3a	„	7,181	0,1459	2,091	0,1116	1,613	0,0343	0,4776
	3b	„	8,794	0,1832	2,084	0,1412	1,607	0,0420	0,4775
	Mittel		7,988	0,1646	2,088	0,1264	1,610	0,0382	0,4776

Fortsetzung der vorstehenden Tabelle.

Geschlecht	Nummer	Art des Organs	Menge des Organbreis	Menge des gereinigten Petrolätherextrakts		Menge der hochmolekularen Fettsäuren		Menge des Cholesterins	
				g	%	g	%	g	%
Mann	4a	linke N.	7,634	0,1512	1,981	0,1172	1,536	0,0340	0,4454
	4b	„	6,521	0,1291	1,980	0,1000	1,534	0,0291	0,4463
	Mittel		7,078	0,1402	1,981	0,1086	1,535	0,0316	0,4459
Weib	5a	Niere	8,024	0,1208	1,505	0,0795	0,990	0,04132	0,5150
	5b	„	7,276	0,1094	1,504	0,0719	0,989	0,0375	0,5153
	Mittel		7,650	0,1151	1,505	0,0757	0,990	0,0394	0,5152
„	6a	„	8,796	0,1126	1,280	0,0662	0,753	0,0464	0,5274
	6b	„	7,029	0,0899	1,279	0,0528	0,751	0,0371	0,5278
	Mittel		7,913	0,1013	1,280	0,0595	0,752	0,0418	0,5270
Mann	7a	„	3,822	0,0670	1,753	0,0480	1,256	0,0190	0,4972
	7b	„	4,722	0,0827	1,752	0,0592	1,254	0,0235	0,4977
	Mittel		4,272	0,0749	1,753	0,0536	1,255	0,0213	0,4975
Weib	8a	„	4,534	0,1978	4,363	0,1636	3,609	0,0342	0,7543
	8b	„	5,294	0,2310	4,363	0,1911	3,609	0,0399	0,7537
	Mittel		4,914	0,2144	4,363	0,1774	3,609	0,0371	0,7540
„	9a	„	7,147	0,1514	2,118	0,1178	1,648	0,0336	0,4701
	9b	„	7,702	0,1632	2,118	0,1270	1,648	0,0362	0,4700
	Mittel		7,425	0,1573	2,118	0,1224	1,648	0,0349	0,4701
„	10a	„	7,200	0,1376	1,911	0,1038	1,442	0,0338	0,4695
	10b	„	9,294	0,1776	1,911	0,1340	1,442	0,0436	0,4691
	Mittel		8,247	0,1576	1,911	0,1189	1,442	0,0387	0,4693
„	11a	„	4,346	0,0710	1,634	0,0520	1,197	0,0190	0,4372
	11b	„	7,038	0,1149	1,632	0,0841	1,195	0,0308	0,4375
	Mittel		5,692	0,0930	1,633	0,0681	1,196	0,0249	0,4374
Mann	12a	„	4,398	0,0924	2,101	0,0716	1,628	0,0208	0,4730
	12b	„	5,386	0,1132	2,102	0,0877	1,629	0,0255	0,4734
	Mittel		4,892	0,1028	2,102	0,0797	1,629	0,0232	0,4732
Weib	13a	„	6,779	0,1358	2,003	0,1073	1,583	0,0285	0,4204
	13b	„	6,311	0,1264	2,003	0,0999	1,583	0,0265	0,4199
	Mittel		6,545	0,1311	2,003	0,1036	1,583	0,0275	0,4202
Mann	14a	„	6,223	0,1134	1,823	0,0876	1,408	0,0258	0,4146
	14b	„	6,876	0,1253	1,822	0,0968	1,408	0,0285	0,4144
	Mittel		6,550	0,1194	1,823	0,0922	1,408	0,0272	0,4145
„	15a	„	4,895	0,0750	1,532	0,0576	1,177	0,0174	0,3555
	15b	„	6,142	0,0941	1,532	0,0723	1,177	0,0218	0,3550
	Mittel		5,519	0,0846	1,532	0,0650	1,177	0,0196	0,3553
Weib	16a	„	5,323	0,1653	2,166	0,0769	1,445	0,0384	0,7214
	16b	„	5,095	0,1104	2,167	0,0736	1,445	0,0368	0,7223
	Mittel		5,209	0,1129	2,167	0,0753	1,445	0,0376	0,7219
Mann	17a	„	5,277	0,1338	2,536	0,1052	1,994	0,0286	0,5420
	17b	„	5,586	0,1415	2,533	0,1112	1,991	0,0303	0,5424
	Mittel		5,432	0,1377	2,535	0,1082	1,993	0,0295	0,5422
Weib	18a	linke N.	5,534	0,0798	1,444	0,0586	1,061	0,0212	0,3831
	18b	„	5,918	0,0854	1,443	0,0627	1,060	0,0227	0,3835
	Mittel		5,726	0,0826	1,444	0,0607	1,061	0,0220	0,3833
„	19a	rechte N	9,742	0,1926	1,976	0,1430	1,467	0,0496	0,5091
	19b	„	7,596	0,1501	1,976	0,1114	1,467	0,0387	0,5095
	Mittel		8,869	0,1714	1,976	0,1272	1,467	0,0442	0,5093
„	20a	linke N.	6,257	0,1498	2,394	0,1116	1,784	0,0382	0,6105
	20b	„	6,745	0,1615	2,394	0,1203	1,783	0,0412	0,6108
	Mittel		6,501	0,1557	2,394	0,1160	1,784	0,0397	0,6107

Fortsetzung der vorstehenden Tabelle.

Geschlecht	Nummer	Art des Organs	Menge des Organbreis	Menge des gereinigten Petroläther-extrakts		Menge der hochmolekularen Fettsäuren		Menge des Cholesterins	
				g	%	g	%	g	%
Mann	21a	Niere	4,867	0,1119	2,299	0,0918	1,886	0,0201	0,4130
	21b	„	5,190	0,1196	2,304	0,0982	1,892	0,0214	0,4123
	Mittel		5,029	0,1158	2,302	0,0950	1,889	0,0208	0,4127
Weib	22a	rechte N.	2,866	0,0774	2,701	0,0666	2,324	0,0108	0,3768
	22b	„	1,949	0,0526	2,699	0,0453	2,322	0,00734	0,3766
	Mittel		2,408	0,0650	2,700	0,0560	2,323	0,0091	0,3767
Mann	23a	linke N.	4,440	0,1144	2,576	0,0961	2,164	0,0183	0,4122
	23b	„	4,096	0,1054	2,574	0,0885	2,161	0,0169	0,4127
	Mittel		4,268	0,1099	2,565	0,0923	2,163	0,0176	0,4125
„	24a	„	7,574	0,2071	2,735	0,1663	2,196	0,0408	0,5388
	24b	„	6,955	0,1902	2,735	0,1627	2,196	0,0375	0,5390
	Mittel		7,265	0,1987	2,735	0,1645	2,196	0,0392	0,5390
Weib	25a	rechte N.	7,885	0,2435	3,088	0,2039	2,586	0,0396	0,5023
	25b	„	6,208	0,1917	3,087	0,1605	2,585	0,0312	0,5025
	Mittel		7,047	0,2176	3,088	0,1822	2,586	0,0354	0,5024
„	26a	Niere	7,915	0,3272	4,133	0,2810	3,550	0,0462	0,5835
	26b	„	6,897	0,2850	4,132	0,2448	3,549	0,0402	0,5829
	Mittel		7,404	0,3061	4,133	0,2629	3,550	0,0432	0,5832
Mann	27a	„	7,594	0,1928	2,539	0,1624	2,139	0,0304	0,4004
	27b	„	5,372	0,1365	2,540	0,1150	2,140	0,0215	0,4001
	Mittel		6,483	0,1647	2,540	0,1387	2,140	0,0260	0,4003
Weib	28a	„	4,280	0,1772	4,141	0,1660	3,879	0,0112	0,2617
	28b	„	4,128	0,1709	4,139	0,1601	3,877	0,0108	0,2616
	Mittel		4,204	0,1741	4,140	0,1631	3,878	0,0110	0,2617
Mann	29a	„	7,744	0,2396	3,094	0,1928	2,490	0,0468	0,6043
	29b	„	7,011	0,2170	3,095	0,1746	2,490	0,0424	0,6047
	Mittel		7,378	0,2283	3,095	0,1837	2,490	0,0446	0,6045
Weib	30a	„	6,088	0,3112	5,112	0,3050	5,010	0,0062	0,1018
	30b	„	5,392	0,2756	5,111	0,2701	5,008	0,0055	0,1020
	Mittel		6,230	0,2834	5,111	0,2876	5,009	0,0059	0,1019
„	31a	„	7,169	0,4192	5,848	0,3811	5,317	0,0381	0,5315
	31b	„	7,644	0,4490	5,848	0,4064	5,317	0,0406	0,5311
	Mittel		7,407	0,4331	5,848	0,3938	5,317	0,0394	0,5313
Mann	32a	„	6,114	0,2774	4,537	0,2450	4,007	0,0324	0,5299
	32b	„	5,612	0,2547	4,537	0,2250	4,008	0,0297	0,5291
	Mittel		5,863	0,2661	4,537	0,2350	4,008	0,0311	0,5295
„	33a	„	5,951	0,6642	11,16	0,6350	10,67	0,0292	0,4907
	33b	„	6,507	0,7263	11,16	0,6944	10,67	0,0319	0,4903
	Mittel		6,229	0,6953	11,16	0,6647	10,67	0,0306	0,4910

Die Beeinflussung der Entwicklung und der Oxydationsvorgänge im Seeigelei (Arbacia) durch Basen.

Von

Jacques Loeb und Hardolph Wasteneys.

(Aus dem Rockefeller Institute, New York.)

(Eingegangen am 15. Oktober 1911.)

I.

In einer früheren Arbeit hatte Loeb[1]) gezeigt, daß die Entwicklung der frisch befruchteten Eier des Seeigels Strongylocentrotus purpuratus in einer eigentümlichen Weise von der Konzentration der Hydroxylionen der Lösung abhängt, in der die Entwicklung stattfindet. Bringt man die Eier unmittelbar nach der Befruchtung in 50 ccm einer $^{m}/_{2}$ Lösung von NaCl, KCl, $CaCl_2$ und $MgCl_2$ in dem Verhältnis, in dem diese Salze im Seewasser enthalten sind, und setzt man zu einer solchen Lösung 0, 0,1, 0,2, 0,4, 0,8 und 1,6 ccm $^{n}/_{10}$-KHO zu, so tritt in der neutralen Lösung keine Furchung der Eier ein; und dasselbe beobachtet man auch in den Lösungen, denen man 0,8 ccm oder mehr $^{n}/_{10}$-KHO zusetzt. In den Lösungen aber, die 0,1 oder 0,2 ccm $^{n}/_{10}$-NaHO enthalten, tritt eine normale Furchung und Entwicklung der Eier zu schwimmenden Larven ein. Eine zu niedrige und eine zu hohe Konzentration der Hydroxylionen hemmt also die Furchung und Entwicklung der frisch befruchteten Eier von Strongylocentrotus purpuratus. Die minimale Konzentration der HO-Ionen, in der die Entwicklung der frisch befruchteten Eier stattfinden kann, ist etwa 10^{-6} n. Das Gesagte gilt nur für die Eier unmittelbar nach der Befruchtung. Ist die Entwicklung einmal im Gange, so kann sich das Ei eines Seeigels auch in einer neutralen Lösung der erwähnten Salze weiter entwickeln.

[1]) J. Loeb, diese Zeitschr. 2, 91, 1906.

Loeb erklärte die Bedeutung der Hydroxylionen für die Entwicklung durch die Annahme, daß sie die Oxydationen beschleunigen. Für diese Annahme hatte sich eine Reihe von Anhaltspunkten ergeben, auf die wir hier nicht einzugehen brauchen.

O. Warburg[1]) verglich den Sauerstoffverbrauch der Eier von Strongylocentrotus in Neapel bei drei verschiedenen Konzentrationen von HO-Ionen, nämlich 10^{-8}, 10^{-6} und 10^{-3} n. Der Sauerstoffverbrauch stand im Verhältnis von 1,4 : 3,9 : 8,1. Nur bei der HO-Konzentration von 10^{-6} fand in diesen Fällen Furchung und Entwicklung statt, was den früheren Beobachtungen von Loeb entspricht.

Wir haben in der vorigen Arbeit die Untersuchung der Frage begonnen, ob die Oxydationsvorgänge die unabhängige Variable bei den Lebenserscheinungen sind. Es schien wünschenswert, für eine größere Zahl von Konzentrationen der Hydroxylionen den Zusammenhang zwischen Beeinflussung der Oxydation und der Furchung des Eies festzustellen.

Unsere Versuche wurden an den Eiern des Seeigels Arbacia in Woods Hole angestellt. Die Eier dieses Seeigels furchen und entwickeln sich schon von vornherein in einer neutralen Lösung von NaCl, KCl, $CaCl_2$ zu schwimmenden Larven und unterscheiden sich daher in diesem Punkte von den Eiern von Strongylocentrotus. Fügt man zu 100 ccm einer solchen Lösung 0,1 bis 0,2 ccm $^n/_{10}$-NaHO oder NH_4HO, so wird die Entwicklung der Eier etwas beschleunigt, und mehr Eier erreichen das Larvenstadium als in neutraler Lösung; fügt man aber 0,4 ccm oder mehr $^n/_{10}$-NaHO oder NH_4HO zu 100 ccm der Salzlösung, so tritt eine deutliche Hemmung der Entwicklung ein und die Eier leiden. Diese schädigende Wirkung des Alkalis wird um so größer, je mehr Alkali zugefügt wird.

Wir verfuhren in unseren Versuchen so, daß wir zuerst den Sauerstoffverbrauch der frisch befruchteten Eier in einer neutralen Lösung von $NaCl + KCl + CaCl_2$ bestimmten, und dann bei denselben Eiern nacheinander in zwei alkalischen Lösungen derselben Salze. Die Expositionsdauer in einer Lösung betrug $1^1/_2$ Stunden, die Temperatur 20°.

---

[1]) O. Warburg, Zeitschr. f. physiol. Chem. 66, 305, 1910.

Die in dieser Arbeit benutzten Lösungen waren stets halbgrammolekular und besaßen nach den Methoden von Friedenthal eine HO-Ionenkonzentration von 10^{-7} n, waren also genau neutral.

Die Einzelheiten der Methode der Bestimmung des O-Verbrauchs nach Winkler sind in den voraufgehenden Arbeiten gegeben.

Tabelle I gibt eine Übersicht über die Versuche und Resultate.

Tabelle I.

Versuchsreihe	Natur der Lösung	Sauerstoffverbrauch in $1^1/_2$ Std. bei 20° mg
1	100 ccm NaCl KCl $CaCl_2$ neutral	0,65
	100 „ NaCl KCl $CaCl_2$ + 0,05 ccm $^n/_{10}$-HCl . .	0,61
	100 „ NaCl KCl $CaCl_2$ + 0,1 „ $^n/_{10}$-HCl . .	0,36
2	100 ccm NaCl KCl $CaCl_2$ neutral	1,09
	100 „ NaCl KCl $CaCl_2$ + 0,21 ccm $^n/_{10}$-NaHO .	1,39
	100 „ NaCl KCl $CaCl_2$ + 0,42 „ $^n/_{10}$-NaHO .	1,94
3	100 ccm NaCl KCl $CaCl_2$ neutral	0,80
	100 „ NaCl KCl $CaCl_2$ + 0,105 ccm $^n/_{10}$-NaHO .	0,94
	100 „ NaCl KCl $CaCl_2$ + 0,21 „ $^n/_{10}$-NaHO .	1,04
4	100 ccm NaCl KCl $CaCl_2$ neutral	0,56
	100 „ NaCl KCl $CaCl_2$ + 0,42 ccm $^n/_{10}$-NaHO .	1,24
	100 „ NaCl KCl $CaCl_2$ + 0,84 „ $^n/_{10}$-NaHO .	1,53
5	100 ccm NaCl KCl $CaCl_2$ neutral	0,57
	100 „ NaCl KCl $CaCl_2$ + 0,63 ccm $^n/_{10}$-NaHO .	1,34
	100 „ NaCl KCl $CaCl_2$ + 1,25 „ $^n/_{10}$-NaHO .	1,65

Bestimmen wir nun danach den Einfluß der Konzentration der HO-Ionen auf den Sauerstoffverbrauch, indem wir den Sauerstoffverbrauch in der neutralen Lösung als 1 bezeichnen, so erhalten wir folgende Werte.

Tabelle II.

Konzentration der HO-Ionen	Koeffizient des Sauerstoffverbrauchs
$2 \cdot 10^{-10}$	0,93
10^{-7}	1,0
10^{-4}	1,17
$2{,}1 \cdot 10^{-4}$	1,30 1,27
$4{,}2 \cdot 10^{-4}$	1,78 2,21
$6{,}3 \cdot 10^{-4}$	2,35
$8{,}4 \cdot 10^{-4}$	2,74

Zunächst muß bemerkt werden, daß die Eier von Arbacia sich selbst noch in einer schwach sauren Lösung $C_{HO} = 2 \cdot 10^{-10}$ zu furchen vermögen. Aber in $C_{HO} = 10^{-10}$ findet keine Furchung mehr statt. Die Eier agglutinieren, und die Werte für den Sauerstoffverbrauch fallen daher zu niedrig aus und sind nicht verwertet worden. Bei $C_{HO} = 10^{-7}$ findet vollständige Entwicklung der Eier bis zum Blastulastadium oder bis zur beginnenden Gastrulation statt. Bei $C_{HO} = 4 \cdot 10^{-4}$ wird die Entwicklung gehemmt resp. unterdrückt.

Der Sauerstoffverbrauch wächst nun anfangs mit zunehmender C_{HO} sehr langsam; einem Anwachsen der C_{HO} von $2 \cdot 10^{-10}$ bis zu 10^{-4} entspricht ein Anwachsen des Sauerstoffverbrauchs um rund 20 bis 30%, während einem Anwachsen der C_{HO} von 10^{-4} auf $8 \cdot 10^{-4}$ ein Anwachsen des Sauerstoffkonsums von etwas mehr als 100% entspricht. Aus diesen Versuchen dürfen wir nun zunächst den Schluß ziehen, daß die Entwicklungshemmung bei Zusatz von zuviel NaHO sicher nicht auf der hierdurch bedingten Oxydationsbeschleunigung beruht. Wir sehen nämlich, daß der Zusatz von so viel NaHO, als nötig ist, um die Oxydationen auf das Doppelte des für die Furchung nötigen Minimums zu erhöhen, bereits die Furchung unterdrückt. Unsere Versuche waren bei einer Temperatur von 20° angestellt worden. Wir sahen nun in der voraufgehenden Abhandlung, daß, wenn man die Temperatur von 20° auf 30° erhöht, die Oxydationen mehr als verdoppelt werden; daß aber eine durch diese Temperaturerhöhung bedingte Verdoppelung der Oxydationen nicht etwa die Furchung des Eies von Arbacia hemmt, sondern im Gegenteil dieselbe bis auf nahezu das Doppelte beschleunigt. Daraus folgt also mit Sicherheit, daß die Hemmung der Entwicklung durch den Zusatz von NaHO durch andere Einflüsse als durch die Oxydationsbeschleunigung bedingt ist. Es ist ja gewissermaßen selbstverständlich, daß ein Stoff wie NaHO in mehr als einen der chemischen Prozesse im Ei einzugreifen imstande ist.

II.

In früheren Arbeiten hatte Loeb gezeigt, daß der Zusatz derselben Menge von NaHO ganz verschiedene Wirkungen auf die Eier ausübt, je nach der Natur der Salzlösung, in der sich

dieselben befinden[1]). Setzt man etwa 0,1 ccm $^n/_{10}$-NaHO zu 50 ccm einer neutralen Lösung von NaCl oder von NaCl + KCl, so erhöht man damit die Schädlichkeit der Lösung auf die frisch befruchteten Eier des Seeigels (Strongylocentrotus und Arbacia). Fügt man aber dieselbe Menge NaHO zu 50 ccm einer Lösung von NaCl + $CaCl_2$, so verringert man damit die Giftigkeit einer solchen Lösung bei Arbacia. Die Eier, die in einer neutralen Lösung von NaCl + $CaCl_2$ sonst zerfallen, bleiben viel länger am Leben, wenn man die Lösung schwach alkalisch macht. Hat man es mit einer neutralen Lösung von NaCl + KCl + $CaCl_2$ zu tun, so können sich in einer solchen Lösung die frisch befruchteten Eier von Arbacia, wie schon erwähnt, bis zu schwimmenden Larven entwickeln; der Zusatz von etwas NaHO erhöht die Zahl und Lebensdauer der sich zu Larven entwickelnden Eier; aber die entgiftende Wirkung des Zusatzes von NaHO ist nicht so scharf ausgesprochen wie beim Zusatz von NaHO zu einer Mischung von NaCl + $CaCl_2$. Wir müssen die Frage aufwerfen: Hängen diese Verschiedenheiten von der Wirkung von NaHO auf die Oxydationen ab? Wir haben nicht sehr viele Versuche angestellt, aber dieselben scheinen die Frage eindeutig in dem Sinne zu entscheiden, daß die Verschiedenheit der Wirkung derselben Konzentration von Hydroxylionen in verschiedenen Salzlösungen bei Arbacia nicht auf Unterschiede der Oxydationsbeschleunigung zurückzuführen ist.

Tabelle III.

Versuchsreihe	Natur der Lösung	Sauerstoffverbrauch der Eier bei 20° in 1½ Std. mg
1	100 ccm NaCl + $CaCl_2$ neutral	0,65
	100 „ NaCl + $CaCl_2$ + 0,1 ccm $^n/_{10}$-NaHO .	0,82
	100 „ NaCl + $CaCl_2$ + 0,2 „ $^n/_{10}$-NaHO .	1,02
2	100 ccm NaCl + $CaCl_2$ neutral	0,67
	100 „ NaCl + $CaCl_2$ + 0,4 ccm $^n/_{10}$-NaHO .	1,95
	100 „ NaCl + $CaCl_2$ + 0,8 „ $^n/_{10}$-NaHO .	1,33

Der Zusatz von 0,8 ccm NaHO zu 50 ccm NaCl + $CaCl_2$ schädigte die Eier bereits so stark, daß eine Abnahme der Oxydation eintrat.

[1]) Loeb, diese Zeitschr. 2, 89, 1906.

Bestimmen wir den Geschwindigkeitskoeffizienten für die Oxydation für die verschiedenen Konzentrationen von NaHO in diesem Falle (indem wir die Geschwindigkeit des O-Verbrauchs in der neutralen Lösung von $NaCl + CaCl_2 = 1$ setzen, (so erhalten wir:

Tabelle IV.

$NaCl + CaCl_2$ (neutral)	$C_{HO} = 10^{-7}$ n	1,0
	$C_{HO} = 10^{-6}$ n	1,26
	$C_{HO} = 2 \cdot 10^{-6}$ n	1,57
	$C_{HO} = 4 \cdot 10^{-6}$ n	2,9

Diese Koeffizienten der Oxydationsbeschleunigung sind nahezu identisch mit denjenigen, die wir für die Oxydationsbeschleunigung durch NaHO in einer Lösung von $NaCl + KCl + CaCl_2$ fanden. Wir müssen daraus schließen, daß die „entgiftende" Wirkung des Zusatzes einer kleinen Menge von NaHO zu einer Mischung von $NaCl + CaCl_2$, die bei den frisch befruchteten Eiern von Arbacia beobachtet wird, nicht auf Beeinflussung der Oxydation zurückgeführt werden kann. Vielmehr müssen wir annehmen, daß in diesem Falle eine Spur von NaHO eine ähnliche Wirkung ausübt, wie sie auch dem Zusatz von K zukommt, d. h. daß es sich um eine physikalisch-chemische Wirkung auf die Kolloide der Zelloberfläche handelt, um eine Art „Gerbwirkung".

Was endlich die direkt schädliche cytolysierende Wirkung kleiner Mengen von NaHO betrifft, die man beobachtet, wenn man dieselbe zu einer Mischung von $NaCl + KCl$ zusetzt, so darf dieselbe wohl ebenfalls nicht auf die Oxydationsbeschleunigung durch NaHO zurückgeführt werden, sondern dieselbe muß auf einer anderen Wirkung von NaHO beruhen, wie der folgende Versuch zu beweisen scheint.

Tabelle V.

Natur der Lösung	Sauerstoffverbrauch der Eier in $1^1/_2$ Std. bei 20° mg
100 ccm $NaCl + KCl$ neutral	0,79
100 „ $NaCl + KCl + 0{,}1$ ccm $^n/_{10}$-NaHO	1,13
100 „ $NaCl + KCl + 0{,}2$ „ $^n/_{10}$-NaHO	1,17

In einer neutralen Lösung von NaCl + KCl furchen sich alle Eier bis zum 64. Zellstadium; in einer Lösung mit 0,2 ccm $^n/_{10}$-NaHO erreichten nur wenige Eier das Zweizellenstadium, bei den meisten tritt schon vor der Furchung die Cytolyse ein. Das erklärt wohl die geringe Zunahme der Oxydationen in dieser Lösung im Vergleich mit der voraufgehenden Lösung, bei der 0,1 ccm $^n/_{10}$-NaHO zugesetzt war. In der letzteren Lösung furchen sich alle Eier.

Sollte eine Wiederholung dieses Versuchs bei den Eiern von Arbacia diese Zahlen bestätigen, so würde daraus folgen, daß der Unterschied in der Wirkung von NaHO, je nachdem es zu einer Lösung von NaCl + KCl + $CaCl_2$ oder von NaCl + $CaCl_2$ oder zu einer Lösung von NaCl + KCl zugesetzt wird, nicht auf Unterschiede in der Oxydationsbeeinflussung durch NaHO bezogen werden darf. Denn bei dem Zusatz von 0,1 ccm $^n/_{10}$-NaHO zu einer neutralen Mischung von NaCl + $CaCl_2$ wurde die Oxydationsgeschwindigkeit um 26%, bei Zusatz derselben Menge zu einer Mischung von NaCl + KCl um 46% erhöht. Da die Versuche bei einer Temperatur von 20° angestellt worden waren, so entspricht der Unterschied in der Oxydationsgeschwindigkeit einem Temperaturunterschied von weniger als 10°. Wie wir aber in der früheren Arbeit sahen, wirkt eine Temperaturerhöhung von 20° auf 30° auf das Ei von Arbacia nicht schädigend, sondern geradezu entwicklungsbeschleunigend.

III.

Im Anschluß an frühere Versuche von O. Warburg[1]) ist O. Meyerhof[2]) neuerdings zu folgendem Schluß gelangt: „Danach wird die normale Atmungsgröße der Strongylocentrotus-Eier (für nicht zu lange Zeiten) ausschließlich durch 3 Komponenten bestimmt: NaCl, Ca und OH. NaCl allein gibt den 4 bis 5fachen Wert gegenüber der wirklich stattfindenden Atmung, Ca drückt ihn auf das 12 oder 15fache herunter und OH' steigert ihn dann wieder auf das 3fache, woraus die normale Atmung resultiert." Und weiterhin: „Der Einfluß von K auf die Atmung in NaCl ist fast Null."

---

[1]) Warburg, Zeitschr. f. physiol. Chem. 66, 305, 1910.
[2]) Meyerhof, diese Zeitschr. 33, 291, 1911.

Wir haben keine Versuche über die Atmung der Eier von Strongylocentrotus angestellt, weil uns dieselben hier nicht zur Verfügung stehen. Dagegen haben wir schon im vorigen Jahre an den Eiern von Arbacia Versuche angestellt, die nichts von einer derartigen Beeinflussung der Atmung durch Salze erkennen lassen, die Meyerhof für die Eier von Strongylocentrotus gefunden hat. In einer reinen neutralen NaCl-Lösung war die Atmung nicht um das 4 bis 5fache erhöht, sondern praktisch unverändert; der Zusatz von Ca setzte die Atmung nicht auf das 12 bis 15fache herunter, sondern ließ dieselbe praktisch unverändert; und die vorliegende Arbeit zeigt, daß Erhöhung der HO-Ionenkonzentration von 10^{-7} n auf 10^{-6} n die Atmung bei Arbacia im besten Falle nur um rund 20% erhöht. Die Versuchsdauer war bei Meyerhof nur 12 Minuten. Darin liegt eine Gefahr. Es ist nämlich sehr wichtig, daß die Eier gleichmäßig suspendiert gehalten werden; findet in zwei zu vergleichenden Versuchen eine ungleiche Verteilung der Eier in der Lösung statt, beispielsweise ein rascheres Sinken der Eier je nach der Natur der Lösung oder eine größere Tendenz zum Zusammenballen oder zur Haufenbildung der Eier in der einen als in der anderen Lösung, so muß ein großer und dem Sinne nach konstanter Unterschied in dem Sauerstoffverbrauch entstehen. Dieser Fehler muß sich dann besonders bemerklich machen, wenn man mit einer exzessiven Menge von Eiern arbeitet, wie das in Meyerhofs Versuchen der Fall war, der die kurze Dauer seiner Versuche durch einen Überschuß in der Masse der Eier in jedem Versuch kompensieren mußte. Daß die Eier sich in verschiedenen Lösungen in der Tat physikalisch verschieden verhalten, geht u. a. aus der folgenden Angabe Meyerhofs hervor: „In NaCl-Lösung schrumpfen die Eier (nach anfänglicher Ausbildung) und nehmen beim Absetzen nur $^1/_3$ des Volumens am Boden der Versuchsflasche ein wie im Seewasser. Genau so verhalten sich die Eier in (NaCl + KCl). Umgekehrt nehmen die Eier in (NaCl + $CaCl_2$) ebensoviel Platz ein wie im Seewasser[1])." Bei Arbacia haben wir derartige Wirkungen der Lösungen nicht bemerkt.

[1]) Es sei auch noch bemerkt, daß Meyerhofs Lösungen 0,65 m betrugen, während wir mit $^m/_2$ Lösungen arbeiteten, die für Arbacia isotonisch sind.

Da wir mit Versuchen über Salzwirkungen beschäftigt sind und da solche Schlüsse, wie Meyerhof sie zieht, für die Theorie der Salzwirkung von der größten Bedeutung sein müßten, haben wir unsere vorjährigen Versuche an Arbacia noch einmal wiederholt. Der wesentliche Punkt ist ein Vergleich der Wirkung von (NaCl + KCl) und (NaCl + $CaCl_2$) auf die Atmung der Eier von Arbacia. Ca sollte die Atmung auf das 12 bis 15fache des Wertes in Seewasser herunterdrücken; in Na + K sollte dieselbe auf das 4 bis 5fache ihres Wertes im Seewasser erhöht sein.

Wir verfuhren zunächst so, daß wir dieselben Eier $1^1/_2$ Stunden bei 20° nacheinander in (Na + K + Ca)[1]), in (Na + Ca) oder (Na + K) atmen ließen. Die Lösungen waren alle neutral. 1 Stunde lang wurde das Gefäß je einmal in 3 Minuten rotiert und für eine gleichmäßige Suspension der Eier gesorgt. Wir geben das Resultat von einer Versuchsreihe wieder.

Tabelle VI.

Natur der Lösung	O-Verbrauch in $1^1/_2$ Std. bei 20° mg
100 ccm NaCl $CaCl_2$ KCl, neutral . . .	0,58
100 „ NaCl + KCl neutral . . .	0,61
100 „ NaCl + $CaCl_2$ neutral . . .	0,28

Die Eier hatten sich in der Lösung von NaCl + KCl alle weiter gefurcht, aber in der Lösung von NaCl + $CaCl_2$ war die Furchung nicht weiter gegangen. Das bedingte wohl den Abfall im Sauerstoffverbrauch. Die Eier waren aber nicht tot; denn ein Teil derselben, der nach Abschluß des Versuchs in normales Seewasser übertragen wurde, hatte sich am nächsten Morgen zu schwimmenden Larven entwickelt. Man sieht, daß die Übertragung der Eier aus einer Lösung von NaCl + $CaCl_2$ + KCl in eine Lösung von NaCl + KCl (also ohne Ca) die Atmung völlig unverändert läßt. Es sei auch ausdrücklich bemerkt, daß die Eier nach der Übertragung in NaCl + KCl erst dreimal mit dieser Lösung gewaschen wurden, um ja sicher zu sein, daß praktisch alles Ca entfernt war, ehe mit dem Atmungsversuch in dieser Lösung begonnen wurde.

[1]) In NaCl + KCl + $CaCl_2$ ist der Sauerstoffverbrauch der Arbacia-eier ungefähr derselbe wie in Seewasser.

Es schien uns aber doch nötig zu sein, unser Versuchsresultat noch einmal nach einer anderen Methode zu bestätigen. Wir hatten in den bisher erwähnten Versuchen immer die Atmung bei denselben Eiern nacheinander in verschiedenen Lösungen bestimmt. Warburg und Meyerhof hatten die Eier in zwei Teile geteilt und gleichzeitig die Atmung der beiden Hälften in verschiedenen Lösungen bestimmt. Wir vermieden diese Methode bisher, weil wir eine Garantie dafür vermißten, daß uns die vollkommene Halbierung der in einer Flüssigkeit suspendierten Eier gelungen sei. Ist die Suspension nicht vollkommen homogen, so kann eine Halbierung der Flüssigkeitsmenge keine Halbierung der Masse der Eier ergeben. Wir übten uns nun auf die Methode der Halbierung ein und stellten zunächst einen Kontrollversuch an, ob uns die Halbierung gelungen sei. Eine Menge von frisch befruchteten Arbaciaeiern wurde in $NaCl + KCl + CaCl_2$ gebracht und die Menge der Flüssigkeit mit den anscheinend gleichmäßig suspendierten Eiern halbiert. Der Sauerstoffverbrauch wurde in jeder Partie bei 20° für $1^1/_2$ Stunden (1 Stunde rotiert, $^1/_2$ Stunde für das Niedersetzen der Eier) bestimmt und ergab in beiden Fällen genau dieselbe Menge, nämlich 0,68 mg. Die vollständige Übereinstimmung in der zweiten Dezimale dürfte wohl ein reiner Zufall sein, aber die Übereinstimmung der Zahlen schien eine Gewähr dafür zu sein, daß wir mit der Methode weitergehen durften.

Im nächsten Versuch wurde nun die eine Hälfte frisch befruchteter Eier in $NaCl + KCl + CaCl_2$ gebracht, die zweite Hälfte in $NaCl + CaCl_2$.

Sauerstoffverbrauch:

in $1^1/_2$ Stunden bei 20° in $NaCl + KCl + CaCl_2$ (neutral) 0,74 mg,
in $1^1/_2$ „ „ 20° „ $NaCl + CaCl_2$ (neutral) 0,67 mg.

Der Sauerstoffverbrauch ist etwas geringer in $NaCl + CaCl_2$, vermutlich weil hier die Furchung nicht so weit fortschritt wie in der anderen Lösung. In $NaCl + KCl + CaCl_2$ waren alle Eier am Ende des Versuchs im 4. Zellstadium; in $NaCl + CaCl_2$ meist im 2. Zellstadium und nur ein Teil im 4. Zellstadium.

Im nächsten Versuch wurde die eine Hälfte der Eier in $NaCl + KCl + CaCl_2$ gebracht und die zweite Hälfte in

$NaCl + KCl$. Vor Beginn des Versuchs waren die Eier dreimal in ihrer Lösung gewaschen worden.

Sauerstoffverbrauch:

in $1^1/_2$ Stunden bei 20° in $NaCl + KCl + CaCl_2$ (neutral) 0,65 mg,
in $1^1/_2$ „ „ 20° „ $NaCl + KCl$ (neutral) 0,73 mg.

Wir kommen also wieder zu demselben Resultat, das wir auch bei der anderen Methode erhielten: Bei Arbaciaeiern wird die Oxydationsgeschwindigkeit durch die Gegenwart der normalen Menge von Ca überhaupt nicht oder nur in kaum merkbarer Weise bei der Dauer unserer Versuche verringert.

Meyerhof hat mit Recht in seiner Arbeit darauf hingewiesen, daß ein von uns im vorigen Jahre mitgeteilter Versuch in einem Punkte unverständlich sei[1]). Die Unverständlichkeit rührt aber lediglich von einem Schreibfehler her, der sich in unser Protokollbuch eingeschlichen hat, was uns der Verantwortlichkeit für den Fehler natürlich nicht enthebt. Wir gaben nämlich an (S. 348), daß in $NaCl + KCl + CaCl_2$ die Eier 0,70 mg O verbrauchen, daß aber nach Zusatz von NaCN der Verbrauch auf 0,44 mg fiel. Da nun NaCN den O-Verbrauch auf ein Viertel oder mehr herunterdrückt, so muß der Wert 0,7 für die Lösung ohne NaCN auf einem Schreibfehler beruhen. Wir haben den Versuch dieses Jahr wiederholt und die folgenden Werte erhalten:

Sauerstoffverbrauch:

in $1^1/_2$ Stunden bei 20° in 100 ccm $NaCl + KCl + CaCl_2$ (neutral) . . . . . 0,74 mg,
in $1^1/_2$ „ „ 20° „ 100 ccm $NaCl + KCl + CaCl_2$ + 0,3 ccm $^1/_{10}$% NaCN . . 0,15 mg,
in $1^1/_2$ „ „ 20° „ 100 ccm $NaCl$ + 3 ccm $^1/_{10}$% NaCN . . . . . 0,26 mg.

Die Eier hatten im Versuche insofern nicht gelitten, als sie nach dem Versuche in normales Seewasser gebracht wurden und sich hier alle zu schwimmenden Larven entwickelten. Wir finden auch hier wieder ein Anwachsen des O-Verbrauchs in der cyannatriumhaltigen NaCl-Lösung. Wir wollen aber darauf kein Gewicht legen, da uns dieser Gegenstand hier

[1]) Loeb und Wasteneys, diese Zeitschr. 28, 348, 1910.

nicht interessiert. (Es ist möglich, daß kleine Dosen NaCN in einer NaCl-Lösung die Oxydationen im Arbaciaei etwas weniger herabdrücken, als wenn die Lösung auch noch Ca enthält.)

Wir kommen deshalb zu einer Bestätigung des von uns schon im vorigen Jahr ausgesprochenen Satzes, daß der Sauerstoffverbrauch der frisch befruchteten Eier von Arbacia bei der von uns gewählten Versuchsdauer bei Gegenwart von Ca derselbe ist wie bei Abwesenheit von Ca. Die von Meyerhof bei den Eiern von Strongylocentrotus erhaltenen Resultate lassen sich bei den Eiern von Arbacia in Woods Hole nicht bestätigen.

IV.

Ist die Beschleunigung der Oxydationen und die fördernde Wirkung von NaHO auf die Furchung durch die HO-Ionen bedingt? An dieser Annahme würden wir kaum Veranlassung haben zu zweifeln, wenn nicht der eine von uns nachgewiesen hätte, daß die entwicklungsbegünstigende Wirkung von NaHO auf das Ei von Strongylocentrotus auch durch eine so schwache Base wie Neutralrot ersetzt werden kann[1]). Die Eier von Strongylocentrotus sind nicht imstande, sich in einer neutralen Lösung von $NaCl + KCl + CaCl_2 + MgCl_2$ zu entwickeln. Fügt man aber etwa 0,4 bis 0,8 ccm $^m/_{100}$ Neutralrot zu 50 ccm dieser Lösung, so entwickeln sich alle Eier zu schwimmenden Larven. Wir hielten es für angezeigt, zu untersuchen, ob die Steigerung der Oxydationen im befruchteten Ei von Arbacia durch NH_4OH von derselben Größenordnung ist, wie die durch dieselben Konzentrationen von NaHO bedingte Oxydationssteigerung. Das scheint der Fall zu sein, wie die folgenden Versuche zeigen.

Tabelle V.

Versuchsreihe	Natur der Lösung	Sauerstoffverbrauch der Eier in $1^1/_2$ Std. bei 20° mg
1	100 ccm $NaCl + KCl + CaCl_2$ neutral	1,00
	100 „ $NaCl + KCl + CaCl_2 + 0{,}2$ ccm $^n/_{10}$-NH_4OH	1,19
	100 „ $NaCl + KCl + CaCl_2 + 0{,}4$ „ $^n/_{10}$-NH_4OH	1,60
2	100 ccm $NaCl + KCl + CaCl_2$ neutral	0,56
	100 „ $NaCl + KCl + CaCl_2 + 0{,}4$ ccm $^n/_{10}$-NH_4HO	0,93
	100 „ $NaCl + KCl + CaCl_2 + 0{,}8$ „ $^n/_{10}$-NH_4HO	1,70

[1]) Loeb, diese Zeitschr. 26, 279, 1910.

Bezeichnen wir den Sauerstoffverbrauch in der neutralen Lösung mit 1, so ergeben sich die folgenden Werte für die Oxydationsbeschleunigung durch verschiedene Konzentrationen von NH_4OH:

Tabelle VI.

Konzentration der NH_4OH-Lösung	Koeffizient des Sauerstoffverbrauchs
0	1,00
$2 \cdot 10^{-4}$	1,19
$4 \cdot 10^{-4}$	1,60 1,66
$8 \cdot 10^{-4}$	3,04

Ein Vergleich mit Tabelle II zeigt, daß die Oxydationsbeschleunigung durch NH_4OH von derselben Größenordnung ist, wie die Oxydationsbeschleunigung durch NaHO von derselben Konzentration.

Es ist deshalb zum mindesten fraglich, ob die oxydationsbeschleunigende Wirkung der Basen in diesem Falle auf die Konzentration der freien Hydroxylionen bezogen werden darf. Schon in einer früheren Arbeit hat Loeb darauf hingewiesen, daß hier wohl die durch die Base bewirkte Salzbildung das Wesentliche sein könnte. Auch in bezug auf die entgiftende oder „schützende" Wirkung gegenüber einer Lösung von $NaCl + CaCl_2$ verhalten sich NH_4OH und NaHO gleich, solange die gewählten Konzentrationen nicht zu hoch sind.

V.

Zusammenfassung der Ergebnisse.

1. Die Furchung und der Sauerstoffverbrauch der frisch befruchteten Eier von Arbacia werden in Lösungen von $NaCl + KCl + CaCl_2$ untersucht, in denen die Konzentration der HO-Ionen durch Zusatz von HCl resp. NaHO variiert ist. Es ergibt sich, daß dem Ansteigen der C_{HO} von 10^{-10} n auf 10^{-4} n eine Zunahme der Oxydationsgeschwindigkeit von nur etwa 20% entspricht; dann aber folgt eine raschere Zunahme der Oxydationsgeschwindigkeit mit wachsender C_{HO}. Von $C_{HO} = 10^{-4}$ n bis $C_{HO} = 8.10^{-4}$ steigt die Oxydation auf das Doppelte.

2. Die früher von Loeb und von Warburg beobachtete Tatsache, daß NaHO die Furchung hemmt, wenn es in zu

hoher Konzentration zugesetzt wird, beruht nicht auf der bloßen Oxydationsbeschleunigung. Denn wenn man dieselbe Oxydationsbeschleunigung durch Temperaturerhöhung herbeiführt, so wird, bei passender Wahl der Anfangstemperatur, die Entwicklung des Eies beschleunigt.

3. Loeb hat früher beobachtet, daß Zusatz von kleinen Mengen NaHO zu einer Mischung von $NaCl + KCl$ die Giftigkeit der Lösung erhöht, während Zusatz derselben Lösung zu $NaCl + CaCl_2$ (oder $NaCl + CaCl_2 + KCl$) die Giftigkeit der Lösung veringert. Dieser Unterschied beruht anscheinend nicht auf Verschiedenheiten der Oxydationsbeeinflussung der Eier in diesen Lösungen, da es sich zeigen läßt, daß die Oxydationsbeeinflussung der Eier von Arbacia in Woods Hole durch NaHO in allen drei Lösungen nahezu von der gleichen Größenordnung ist.

4. Die Oxydationsgeschwindigkeit der Eier von Arbacia in neutralen Lösungen von $NaCl + KCl$ ist nahezu von derselben Größenordnung wie in $NaCl + CaCl_2$ oder $NaCl + KCl + CaCl_2$. Der von Meyerhof für das Ei von Strongylocentrotus gezogene Schluß, daß die Gegenwart von Ca dessen Oxydationen auf das 12 bis 15fache ihres normalen Wertes herunterdrücke, läßt sich für die Eier von Arbacia nicht bestätigen.

5. Es wird gezeigt, daß bei gleicher (aber niedriger) Konzentration NH_4HO die Geschwindigkeit der Oxydation im befruchteten Ei von Arbacia ungefähr ebenso stark erhöht wie NaHO. Da Loeb schon früher gezeigt hat, daß bei der Entwicklung des Eies von Strongylocentrotus NaHO selbst durch eine so schwache Base wie Neutralrot ersetzt werden kann, so ist es zweifelhaft, ob es sich hier um Wirkung der freien HO-Ionen handelt. Es liegt näher an eine Wirkung der Basen vermittels Salzbildung zu denken.

Untersuchungen über physikalische Zustandsänderungen der Kolloide.

XII. Mitteilung.

Über Eigenschaften der Eiweißionen[1]).

Von

Carl Schorr.

(Aus der physikalisch-chemischen Abteilung der Biologischen Versuchs-Anstalt in Wien.)

(Eingegangen am 15. Oktober 1911.)

Mit 1 Figur im Text.

Einleitung.

In einer Reihe von Arbeiten der letzten Jahre hat Wo. Pauli eine Theorie der Reaktionen des Eiweißsols mit Säuren, Laugen und Salzen entwickelt, die sich folgendermaßen kurz zusammenfassen läßt.

Eiweiß fungiert als amphoterer Elektrolyt (Bredig) Säuren gegenüber als Base, Basen gegenüber als Säure und bildet mit ihnen Salze, in die das Eiweiß (vermindert um die OH-Gruppe resp. um H) als Kation, resp. als Anion eintritt. Die gleichzeitige elektrolytische Dissoziation dieser Salze ergibt positive, resp. negative Eiweißionen.

Dem Eiweißion als Ion einer schwachen Säure oder Base kommt nun, übereinstimmend mit den von Abegg und Bodländer entwickelten Vorstellungen, geringe Elektroaffinität und

---

[1]) Die experimentellen Ergebnisse dieser Arbeit stammen aus den Jahren 1907—8 und wurden aus äußeren Gründen bisher nicht veröffentlicht. Sie fanden bereits Berücksichtigung in mehreren von Wo. Pauli und seinen Mitarbeitern veröffentlichten früheren Mitteilungen. (Siehe VIII, diese Zeitschr. 18, 340, 1909 und IX, ibid. 24, 239, 1910.

dementsprechend starke Tendenz zur Anlagerung von Neutralteilen zu. Mit Rücksicht auf den Umstand, daß schon das amphotere Eiweißsol, wie bereits aus seiner Definition als „hydrophiles" Kolloid (Perrin) hervorgeht, als weitgehend hydratisiert anzusehen ist, gewinnt das Wasser unter allen für die Komplexbildung mit dem Eiweißion in Betracht kommenden Neutralteilen die vornehmste Bedeutung: das Eiweißion ist gegenüber der „neutralen" (amphoteren) Eiweißmolekel durch hohe Hydratation ausgezeichnet.

Vermöge dieser hohen Hydratation sind Lösungen des ionischen Eiweißes zunächst befähigt, dehydrierenden Einflüssen weitaus größeren Widerstand entgegenzusetzen als die amphotere Eiweißsäure oder -base: hieraus ergibt sich eine Verminderung, resp. Aufhebung der Alkoholfällbarkeit des ionischen Eiweißes. Ferner bedeutet diese Hydratation der Ionen eine weitgehende Beanspruchung des Lösungswassers und eine beträchtliche Erhöhung der inneren Reibung der Lösung. Endlich ist zu bedenken, daß dieser ionische Hydratkomplex bei der Fortbewegung im Lösungsmittel infolge Größe und Oberflächenbeschaffenheit erheblichen Widerstand finden muß; daher wird die Bildung dieser äußerst langsam wandernden Eiweißionen, die ja auf Kosten der Ladung von $H^{\cdot}$-, resp. OH'-Ionen erfolgt, von einer Verminderung der Leitfähigkeit unter den additiv berechneten Wert begleitet sein. —

Diese mit der Ionisation des Eiweißes verknüpften Änderungen der physikalischen Konstanten der Lösung werden vor allem in zwei Fällen charakteristisch zutage treten.

Der erste Fall ist gegeben, wenn man verschiedene Eiweißsole betrachtet, die steigende Konzentrationen einer Lauge oder Säure enthalten. Nach Laqueur und Sackur hat dann die interferierende Wirkung der beiden Ionen (z. B. von NaOH), von denen das eine (OH') das Gleichgewicht

$$\text{Eiw. } H + OH' \rightleftarrows \text{Eiw.}' + H_2O$$

im Sinne einer Vermehrung der Eiweißionen (Zurückdrängung der Hydrolyse), das andere Ion ($Na^{\cdot}$) das Gleichgewicht

$$\text{Eiw. } Na \rightleftarrows \text{Eiw.}' + Na^{\cdot}$$

im Sinne einer Verminderung der Eiweißionen (Zurückdrängung der Dissoziation) beeinflußt, zur Folge, daß der Eiweißione-

gehalt bei einer bestimmten Konzentration der Lauge oder Säure ein Maximum aufweist, indem nach vollständiger Zurückdrängung der Hydrolyse nur mehr die zweite Reaktion allein (im angegebenen Sinne) stattfindet und ihre Wirkung äußert.

Der zweite Fall ist gegeben, wenn man die Änderungen betrachtet, welche die physikalischen Konstanten eines laugen- oder säurehaltigen Eiweißsoles mit der Zeit erleiden. Denn da der Eiweißabbau durch Basen oder Säuren unter Wasseraufnahme erfolgt (E. Fischer), so muß er in jenen Lösungen (relativ) am intensivsten stattfinden, die sich durch den höchsten Gehalt an den stark hydratisierten Eiweißionen auszeichnen. Dieser mit meßbarer Geschwindigkeit ablaufende Abbauprozeß muß sich also durch eine zeitliche Änderung der oben besprochenen physikochemischen Eigenschaften im entsprechenden Sinne kundgeben. —

Durch die Reaktion mit Neutralsalzen verliert das Eiweißion seine elektrische Ladung. Durch den Zusatz von Neutralsalzen werden daher alle jene Eigenschaften vernichtet, die dem Eiweiß im ionischen Zustand zukommen: die Alkoholfällbarkeit wird also wieder hergestellt, die innere Reibung vermindert und die eben besprochene zeitliche Änderung der Werte der inneren Reibung und der Leitfähigkeit aufgehoben.

Experimenteller Teil.

I. Die Zustandsänderungen des Eiweißsoles mit steigendem Laugen- (oder Säure-)gehalt.

Alkoholfällbarkeit.

Eiweiß wird aus seiner Lösung sowohl durch fette wie durch aromatische Alkohole ausgefällt, und zwar mit verschiedener Intensität, die von der chemischen Struktur des Alkohols abhängt [T. L. Brunton und S. Martin[1]), K. Spiro[2])]. In vorliegender Untersuchung kam nur Äthylalkohol zur Verwendung.

Aus den oben enthaltenen theoretischen Überlegungen folgt die maximale Alkoholfällbarkeit des „neutralen" (amphoteren)

[1]) Brunton und Martin, Journ. of Physiol. 12, 1, 1891.

[2]) Spiro, Beitr. z. chem. Physiol. u. Pathol. 4, 300, 1903.

Eiweißsoles. Diese Tatsache beobachten auch Mayer und Terroine[1]), während sie auf Grund ihrer eigenen theoretischen Ansichten das Gegenteil erwarten mußten.

Der Mechanismus der Alkoholeiweißfällung hat verschiedene Deutungen erfahren. J. Mellanby und G. H. Lewis[2]) nehmen für Temperaturen unter 14° die Bildung von Alkoholproteinkomplexen an, die sich durch sehr geringe Löslichkeit auszeichnen, so daß es zur Abscheidung einer festen Phase kommt. Oberhalb 14° findet dagegen nach diesen Autoren eine tiefergreifende Einwirkung des Alkohols auf das Eiweiß statt. — W. Ramsden[3]) spricht dem Alkohol eine höhere Fähigkeit zu, die Oberflächenspannung des Lösungswassers gegen Luft zu erniedrigen, als dem Eiweiß. Da nach seinen eigenen Beobachtungen bei einem Gemische mehrerer Stoffe derjenige vor allem in die Oberfläche geht, der die Spannung am stärksten erniedrigt (Gibbs), so würde sich die Alkoholfällung als Verdrängung des Kolloids durch den Alkohol von der Oberfläche aus darstellen, für welche Auffassung auch einige Beobachtungen des genannten Autors sprechen. — Eine andere Möglichkeit ist damit gegeben, daß der Alkohol durch Erniedrigung des kritischen Mischungspunktes der zweiphasigen Eiweißlösung die Entmischung in Form der Ausfällung verursacht (K. Spiro)[4]). Aus dieser Anschauung, die den prinzipiellen Unterschied der Alkoholfällung und der Aussalzung beseitigt, ergibt sich als notwendige Konsequenz die Reversibilität der Alkoholeiweißfällung, wie sie z. B. in hohem Grade der Neutralsalzeiweißfällung eigentümlich ist. Denn findet die Ausfällung tatsächlich durch Erniedrigung des kritischen Mischungspunktes der zweiphasigen Lösung statt, so muß sich das Eiweiß als flüssige Phase[5]) abscheiden und bei Wiederherstellung der ursprünglichen Verhältnisse (d. h. bei Verdünnung) wieder in Lösung

[1]) Mayer und Terroine, Compt. rend. Soc. Biol. 1907, 317.

[2]) Mellanby und Lewis, Journ. of Physiol. 36, 288, 1907.

[3]) Ramsden, Proc. Roy. Soc. 72, 156, 1903.

[4]) Spiro, l. c.

[5]) Vergleiche die Beobachtungen von Tswett (C. R. de l'Acad. de Sc. 129, 551, 1899) über das Auftreten zweier flüssiger Schichten, einer Lösung von Kolloid in Alkohol und einer Lösung von Alkohol in Kolloid, bei der Quellung von Gelatine und anderen Kolloiden in Resorcin und anderen aromatischen Alkoholen.

gehen. Die gemeinhin beobachtete Irreversibilität alkoholischer Eiweißfällungen kann somit nur eine Folge sekundärer irreversibler Umwandlungen des Präzipitates sein.

Unabhängig von diesen verschiedenen, hier möglichen Vorstellungen ergibt sich jedenfalls aus dem Gesetz der Massenwirkung, daß die Fällungswirkung einer bestimmten Alkoholkonzentration um so geringer sein muß, je größer die ans Eiweiß als Sol gebundene Wassermenge und je inniger diese Bindung ist.

Technik. In diesen und den folgenden Versuchen kamen Rinder- und Pferdesera zur Verwendung, die auf die sorgfältigste, in früheren Mitteilungen ausführlich beschriebene Weise dialysiert worden waren und deren Eiweißgehalt zwischen 2,22% und 2,36% schwankte. Gleiche Teile einer solchen Eiweißlösung und der passend verdünnten Elektrolytlösung (bei den Alkoholfällungsversuchen beiderseits je 3 ccm) wurden zur Herstellung der Untersuchungsproben unter kräftigem Schütteln zusammengemischt und sodann, womöglich sofort nach erfolgter Mischung, mit 30 ccm (wo nichts anderes angegeben) 95%igen Äthylalkohols versetzt und abermals kräftig geschüttelt.

Die oben erwähnte sekundäre, mit der Zeit zunehmende Irreversibilität der Alkoholeiweißfällungen macht es notwendig, immer die gleiche Reihenfolge der einzelnen Zusätze einzuhalten. Nachstehende Tabelle I veranschaulicht die Folgen eines Abweichens von dieser Regel. Beide Male wurden die gleichen Mengen Lauge, Serum und Alkohol zusammengebracht, aber das eine Mal (wie gewöhnlich) zuerst Serum und Lauge gut gemischt und erst in gemeinsamer Lösung mit Alkohol versetzt, das andere Mal wurde das Serum der Mischung aus Lauge und Alkohol zugesetzt. Hier, wie in allen folgenden Tabellen, ist die Konzentration des Elektrolyts auf das Volumen Elektrolyt + Serum bezogen.

Tabelle I.

	Zuletzt: Alkohol	Zuletzt: Serum
0,4 n-NaOH	Gelb-flockiger Niederschlag in trüber Lösung.	Weiß-flockiger Niederschlag in schwach trüber Lösung.
0,5 n-NaOH	Starke Trübung.	Weiß-flockiger Niederschlag in fast klarer Lösung.

Im zweiten Falle ist die Fällungswirkung bedeutend intensiver. Hier wird das neutrale (amphotere) Eiweiß, dem ja maximale Fällbarkeit zukommt, mit dem (laugenhaltigen) Alkohol gemischt und präzipitiert, bevor noch die Reaktion zwischen Serum und Lauge, d. i. die Eiweißionenbildung, stattgefunden hat, was hingegen im ersteren Falle bereits vor Dazutritt des Alkohols geschehen ist. Bei vollkommener

Reversibilität sowohl der Alkohol- wie der Laugenwirkung müßte natürlich in beiden Fällen der gleiche Effekt erreicht werden.

Versuche: In den nachstehenden Tabellen ist der Fällungseffekt folgendermaßen angedeutet: +++ grobflockige Ausfällung in klarer Flüssigkeit, ±++ Ausflockung in schwach getrübter Flüssigkeit, ±±+ schwache Ausflockung in stark getrübter Flüssigkeit, ±±± feinkörnige Ausflockung, ++ milchig-undurchsichtige Ausfällung, ±+ milchig-durchscheinende Ausfällung, ±± starke, noch durchscheinende Trübung, + zarte Trübung, ± Opalescenz, ∓ zarte Opalescenz, ∓_ zarteste Opalescenz, − klar.

Tabelle II.

Einwertige Basen und Säuren.

	NaOH	KOH	HCl	CCl_3COOH
0,001 n	±±±	±	+++	+++
0,002 n	±±	±	±++	+++
0,003 n	±	±	±±	±++
0,005 n	±_	±_	∓	+
0,01 n	±_	−	±_	±
0,02 n	±_	−	−	−
0,025 n	−	−	−	−
0,04 n	−	−	∓_	−
0,05 n	−	∓_	∓	−
0,1 n	∓	∓	±	±
0,2 n	∓	∓	∓	±∓
0,3 n	±±+	±±+	±±	+++
0,5 n	±∓+	±±+		+++

Aus diesen, mehrfach und mit verschiedenen Eiweißlösungen wiederholten Versuchen geht also hervor, daß Eiweiß seine bei anfänglichem Laugen- oder Säurezusatz verlorene Alkoholfällbarkeit in höheren Konzentrationen desselben Zusatzes wiedergewinnt: **Die Alkoholfällbarkeit geht durch ein Minimum.**

Das gleiche Bild findet man auch bei zweiwertigen Laugen und Säuren (siehe Tabelle III). Nur liegt hier die Zone der minimalen Fällungswirkung bei viel niedrigeren Konzentrationen, als es bei den einwertigen Laugen und Säuren der Fall war. Ferner ist die Alkoholfällbarkeit gegenüber dem elektrolytfreien Sol viel weniger herabgesetzt, so daß 95%iger Alkohol selbst noch im „Minimum" opake Fällungen erzeugt. Man muß daher, wenn man die umständliche Wägung der Niederschläge

vermeiden will, schwächeren Alkohol nehmen, damit die Unterschiede in der Fällbarkeit unmittelbar deutlich werden[1]). Die Fällungen der Tabelle III sind daher mit 45%igem Alkohol ausgeführt.

Tabelle III.
Zweiwertige Basen und Säuren.
(45%iger Alkohol.)

	$Ba(OH)_2$	H_2SO_4
0,001 n	+ ± +	+ + +
0,002 n	± ± +	+ + +
0,003 n	±	± + +
0,004 n		± ± +
0,006 n	−	
0,008 n		+
0,01 n	± _	+
0,0125 n	±	+
0,04 n	+ +	± ± ±
0,08 n	± + +	± + +
0,1 n	± + +	± + +
0,125 n	+ + +	+ + +

Im Gegensatze zu diesem, mit „starken" Laugen und Säuren erhaltenen Resultate stehen die Befunde mit „schwachen" Vertretern dieser Stoffklasse, für die die Essigsäure als Typus dienen soll (siehe Tabelle IV).

Tabelle IV.
Essigsäure.

0,003 n	+ + +
0,006 n	± + +
0,01 n	± ± +
0,02 n	+ +
0,03 n	± +
0,04 n	± ±
0,05 n	+
0,06 n	±
0,08 n	±
0,25 n	± _
0,5 n	−
1,0 n	−
1,5 n	−
2,5 n	−

Zwei Unterschiede fallen auf: erstens beginnt die Hemmung, die bei den einwertigen Laugen und Säuren in den Hundertstel-,

[1]) Eine solche Variation der Alkoholkonzentration bietet ganz allgemein eine sehr fein differenzierbare Möglichkeit, wenn es sich um die Feststellung des Verhältnisses des fällbaren zum nichtfällbaren Anteil einer Eiweißlösung handelt.

bei den zweiwertigen in den Tausendstel-Konzentrationen gelegen war, hier erst in den Zehntel; zweitens kehrt die Alkoholfällbarkeit selbst in den höchsten verwendbaren Konzentrationen, die durch die beginnende Eiweißfällung begrenzt sind, nicht mehr wieder.

Beide Tatsachen lassen sich als notwendige Konsequenzen aus den eingangs wiedergegebenen theoretischen Anschauungen ableiten. Denn eine wenig dissoziierte Säure wie die Essigsäure liefert erst in relativ hohen Konzentrationen jene H-Ionenmenge, die hinreicht, die Hydrolyse des gebildeten Eiweißsalzes zu dem Grade zurückzudrängen, daß die Alkoholfällbarkeit der jetzt an Eiweißionen reichen Lösung verschwindet. Ebenso ist der Dissoziationsgrad der Säure zu klein, um durch das gemeinsame Ion die Dissoziation des Eiweißsalzes überhaupt oder so stark zu vermindern, daß sich die dabei gebildeten Neutralmolekel durch ihre Alkoholfällbarkeit verraten. —

Im Anschlusse sei noch eine Versuchsreihe über die Abhängigkeit der Alkoholfällbarkeit von der Konzentration des Kolloides mitgeteilt. Da das Eiweiß in den extrem dialysierten Seren in so geringer Konzentration enthalten ist, daß eine weitere Verdünnung zu eiweißarme Sole ergeben würde, kam bei den Versuchen der nachstehenden Tabelle dialysierte Gelatine in drei Konzentrationen zur Verwendung. Sie wurde in der oben angegebenen Weise mit dem gleichen Volum der Salzsäurelösung und das Gemisch mit absolutem Alkohol versetzt und geschüttelt.

Tabelle V.

	Konzentration der Gelatine.		
	1,5%	2%	3%
0,01 n-HCl	+	+	+
0,02 „	± –	±	±
0,03 „	+	+	+
0,05 „	± ± +	± ± +	± ± +
0,1 „	± ± +	± ± +	± ± +

Die hemmungsfällende Konzentration der Säure ist also von der in ziemlich weiten Grenzen variierten Kolloidkonzentration nicht merklich abhängig und außerdem für Gelatine die gleiche wie für Eiweiß (vgl. Tabelle II).

Innere Reibung.

Jene Klasse kolloider Lösungen, der das Eiweißsol als wichtiger Vertreter angehört, wird von A. Noyes u. a. als „viscous" im Gegensatze zu den „non-viscous colloidal mixtures", als deren Typus etwa ein Metallsol betrachtet werden kann, charakterisiert. Darum entspricht auch dem Übergange von lyophoben zu lyophilen Kolloidlösungen ein starker Anstieg der inneren Reibung (Beck und Ebbinghaus)[1]). Durch diese Tatsachen ist schon die Bedeutung der Methode der Viscositätsmessung für die hier vorliegende Aufgabe gegeben. Ganz speziell erhellt sie aus der eingangs ausführlich referierten Untersuchung von Laqueur und Sackur, der zufolge gerade die Eiweißionen durch hohe innere Reibung ausgezeichnet sind.

Da es sich im folgenden um die Änderungen der Eiweißzähigkeit handelt, die als Ausdruck gewisser Zustandsänderungen betrachtet werden, so genügt die Berechnung der relativen inneren Reibung, bezogen auf die des Wassers bei der gleichen Temperatur. Bedeutet τ die Durchströmungszeit des zu untersuchenden Stoffes, s sein spezifisches Gewicht, τ_0 und s_0 die entsprechenden Konstanten der Standardflüssigkeit (hier des destillierten Wassers), so ist die relative innere Reibung

$$\eta = \frac{s\,\tau}{s_0\,\tau_0}.$$

Man muß daher zur Berechnung des Wertes der relativen inneren Reibung Durchströmungszeit und spezifisches Gewicht einer jeden Lösung bestimmen.

Versuchstechnik: a) Die Bestimmung der Durchströmungszeiten erfolgt nach der von Ostwald modifizierten Methode von Poiseuille und Arrhenius. Für die Messungen bei 25° wurde ein Ostwaldscher durchsichtiger Thermostat benutzt, der leicht auch durch mehrere Stunden auf $\pm$ 0,02° konstant gehalten werden konnte, wenn man nur dafür Sorge trug, daß die Temperatur des Arbeitsraumes nicht zu stark schwankte. Selbst in jenen Versuchen, die sich auf mehrere Tage erstreckten, dürften die maximalen Temperaturschwankungen des Thermostaten (nämlich während der 12 bis 14stündigen Intervalle, während der keine Messungen und keine Rührung stattfanden) kaum einige Zehntelgrade überschritten haben.

Ein kleinerer Teil der Versuche fand bei 14° statt. Hier hing das Viscosimeter in einem großen, dickwandigen, ca. 10 l fassenden Becherglase, dessen Inhalt vor jeder Mischung kräftig durchgerührt wurde. Da die Zimmertemperaturen zu jener Zeit im Durchschnitte, und zwar ziemlich konstant, bei 14° lagen (mit Rücksicht worauf eben diese Ver-

[1]) Beck und Ebbinghaus, Zeitschr. f. physikal. Chem. 58, 409, 1907.

suchstemperatur gewählt wurde), war es auch hier möglich, Temperaturschwankungen über $\pm$ 0,1° zu vermeiden. Bei jeder Ablesung wurde die Temperatur des Bades dazu notiert und die Durchströmungszeiten unter Annahme eines für alle Lösungen gleichen Temperaturkoeffizienten von 2% pro Grad auf 14° reduziert.

Das mit Lupe armierte Thermometer war in Zehntelgrade geteilt und gestattete die bequeme Schätzung von Hundertstel-Graden. Zur Messung der Durchströmungszeit diente eine Stoppuhr, die Fünftelsekunden anzeigte.

Besondere Vorsicht ist bei der Auswahl der geeigneten Viscosimeter geboten. Da die physiologisch bedingten Fehler des Beobachters um so mehr ins Gewicht fallen, je kleiner die Durchströmungszeit ist, so wächst die Genauigkeit der Messungen — ceteris paribus — mit der Länge der Durchströmungszeit. Diese ist wiederum der Menge der durchströmenden Flüssigkeit direkt und der vierten Potenz des Radius der Capillare verkehrt proportional. Doch ist es nicht gleichgültig, welche dieser beiden Größen man variiert. Eine zu weitgehende Verengerung der Capillare hat neben den auch sonst berücksichtigenswerten Bedenken hier noch den speziellen Nachteil, daß die Eiweißlösung in solchen Röhren infolge Verdichtung an der Oberfläche anscheinend stärker zur Koagulation neigt. Es sind dies Erscheinungen, die den von Ramsden[1]) und Metcalf[2]) beobachteten entsprechen und sich auch sonst bei längerem Stehenlassen der Eiweißlösung im Viscosimeter (siehe unten) unangenehm bemerkbar machen. Es erschien somit vorteilhafter, die Verlängerung der Durchströmungszeit in der Weise zu bewirken, daß das Volum der zwischen die beiden Marken eingeschlossenen oberen Kugel des Ostwaldschen Viscosimeters vergrößert und dadurch die Menge der innerhalb der Beobachtungszeit durchströmenden Flüssigkeitsmenge vermehrt wurde.

Ferner erwies es sich als vorteilhaft, den Übergang der oberen Kugel in die Capillare allmählich, trichterförmig zu gestalten, um ein Zurückbleiben eines Teiles der viscösen Flüssigkeit und eine Unterbrechung des Flüssigkeitsfadens zu vermeiden. Denn am störendsten äußerte sich die bekannte Neigung der Eiweißlösungen zur Schaum- und Blasenbildung. Ergab z. B. irgendein Umstand, wie etwa der soeben erwähnte, eine Unterbrechung des Flüssigkeitsfadens in der Capillare, so konnten die beiden Teile nicht mehr vereinigt werden, ohne daß das dazwischen liegende Luftvolum als Blase erhalten blieb, was oft eine neuerliche Reinigung[3]) und Füllung des Viscosimeters notwendig machte. Es galt daher, jede Möglichkeit einer Blasenbildung zu vermeiden.

---

[1]) Ramsden, Proc. Roy. Soc. 72, 156, 1903.

[2]) Metcalf, Zeitschr. f. physikal. Chem. 52, 1, 1905.

[3]) Auch die Reinigung der Viscosimeter, die vorher mit einer Eiweißlösung beschickt waren, erfordert insofern besondere Sorgfalt, als bei unvollständigem Herauswaschen des Proteins nachher durch den zum Trocknen verwendeten Alkohol eine feine, oft nicht leicht bemerkbare, aber kaum mehr zu entfernende Eiweißkoagulation in der Capillare entstehen kann, die natürlich das Viscosimeter für weitere Versuche unbenützbar macht.

Bei Einhaltung aller im Obigen kurz skizzierten und der sonst üblichen Vorsichtsmaßregeln gelang es leicht, für jeden zu berechnenden Reibungswert eine Reihe von 8 bis 10 fast vollkommen übereinstimmenden Durchströmungszeiten zu gewinnen. Bei einer Durchströmungszeit von durchschnittlich 800 bis 900 (meist viel mehr) Fünftel Sekunden betrugen die Unterschiede innerhalb einer Versuchsserie, aus welcher der Mittelwert genommen wurde, maximal zwei Fünftel Sekunden, d. i. 0,1 bis 0,25%. Diese Fehler treten somit vollkommen zurück gegenüber denjenigen, denen man bei der Herstellung der zu untersuchenden Lösungen ausgesetzt ist; diese können auf 1% geschätzt werden.

Bei einem Teile der Versuche wurde die Beobachtung auf 24 Stunden bis mehrere Tage ausgedehnt. Hier lag in der Möglichkeit der Verdunstung eine Fehlerquelle. Um diese zu vermeiden, wurde das weite Rohr des Viscosimeters durch einen tief hineinreichenden Stopfen verschlossen und der über das Capillarrohr geschobene Gummischlauch luftdicht abgeklemmt. Hierauf wurde das Viscosimeter so tief eingesenkt, daß die untere Fläche des Stopfens unter dem Niveau des Bades lag und fast der gesamte Dampfraum die gleiche Temperatur wie die Flüssigkeit hatte. So war freie Verdunstung wie auch Kondensation an den oberen Stellen des Viscosimeters in den mehrstündigen Intervallen zwischen den Messungen gleichmäßig vermieden.

Ferner verdient noch Erwähnung, daß die ersten Ablesungen nach längerem Intervall immer zu hoch ausfallen, ein Befund, den auch Garrett[1]) anführt. Dies hängt zweifellos mit der Bildung jener obenerwähnten festen Oberflächenhäutchen zusammen, die erst nach mehreren Durchströmungen mechanisch zerstört werden. Dieser Grund ist auch für den Umstand verantwortlich zu machen, daß die beiden Teile einer und derselben Eiweißlösung, von denen der eine ruhig im Thermostaten verweilt hatte, während der andere wiederholt zum Durchströmen der Capillare gezwungen worden war, schließlich in ihrer inneren Reibung nicht mehr ganz übereinstimmmten. Versuche von Gokun[2]) an konzentrierten Gelatinelösungen enthalten eine vergröberte Analogie zu diesen Befunden.

Schließlich sei noch an die eingangs enthaltene Bemerkung erinnert, daß der an den stark hydratisierten Eiweißionen angreifende Abbauprozeß eine zeitliche Änderung gewisser charakteristischer physikalischer Konstanten zur Folge hat. Tatsächlich ergibt sich auch, daß die Viscosität der Eiweißlösungen von einem gewissen Laugengehalte aufwärts nicht konstant bleibt, sondern mit der Zeit (anfänglich) ansteigt (Schorr)[3]). Die hypothetischen Anfangswerte müssen daher mit Hilfe der Viscositäts-Zeitkurve extrapoliert werden.

---

[1]) Garrett, Über die Viscosität und den Zusammenhang einiger Colloidlösungen. Diss. Heidelberg 1903.

[2]) Gokun, Koll.-Zeitschr. 3, 84, 1908.

[3]) Schorr, diese Zeitschr. 13, 173, 1908.

b) Die spezifischen Gewichte wurden in einem Pyknometer bestimmt, dessen Form gegenüber der Ostwald-Sprengelschen ein wenig verändert wurde. (Fig. 1.) Die beiden Capillaren *a* und *b* sind unter einem Winkel von ca. 45° aufgebogen. Im Niveau der Spitze von *a* ist auf *b* die Hauptmarke eingeritzt, so daß sich die Flüssigkeit bei dieser Höhe des Meniskus im hydrostatischen Gleichgewichte befindet. Um das oft zeitraubende Einstellen des Meniskus auf die Hauptmarke (durch Betupfen der Spitze von *a* mit Fließpapier) zu vermeiden, wurden zu beiden Seiten der Hauptmarke noch insgesamt 15 weitere Marken im Abstande von je 1 mm eingeritzt und das Volum der Capillare zwischen zwei solchen Marken durch Auswägen mit Quecksilber bestimmt[1]). Es genügte dann, die zu prüfende Flüssigkeit so einzustellen, daß der Meniskus zwischen den beiden extremen Marken lag, um das spezifische Gewicht zu berechnen. Der Bequemlichkeit halber wurde dieses nicht auf Wasser von 4°, sondern auf Wasser derselben Temperatur bezogen, bei der auch die zu untersuchende Lösung gemessen wurde.

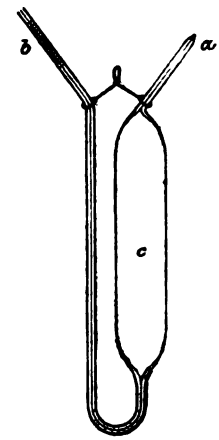


Fig. 1.

Es stellte sich als notwendig heraus, die Eiweißlösungen vor dem Einfüllen ins Pyknometer vorzuwärmen, weil sonst (infolge Verwendung nicht luftfrei gemachten Wassers bei der Verdünnung) Luftbläschen sich ausschieden, die sich alsbald mit einer Eiweißhülle umgaben.

Die aufgebogenen Capillaren erlaubten, das Pyknometer (mittels eines Platindrahtes) so tief ins Thermostatenbad zu senken, daß fast das ganze Volum eintauchte und rasches Temperaturgleichgewicht erreicht wurde. Diesem Umstande kam auch die Dünnwandigkeit des Pyknometers entgegen, wodurch wieder andererseits geringes Gewicht und erhöhte Genauigkeit der Messung erreicht wurden. Der aufgeblasene Teil *c* faßte 20 oder 30 ccm.

---

[1]) Vgl. J. F. Eijkman, Rec. Trav. Chim. Pays-Bas 13, 24, 1894.

Der Quecksilberfaden, der gerade 15 Teilstriche ausfüllte, wog 0,71217 g. Das von ihm eingenommene Volum beträgt somit (nach Ostwald-Luther, Hand- und Hilfsbuch [3. Aufl. 1910] S. 163.)

$$V = 0{,}07351 \cdot (1 + 0{,}000182 \cdot 18) \cdot 0{,}71217 \text{ ccm} = 0{,}04172 \text{ ccm}.$$

Das Volum zwischen zwei um 1 mm entfernten Teilstrichen somit

$$0{,}04172 \text{ ccm} : 15 = 0{,}00278 \text{ ccm}.$$

Da das ganze Pyknometer ca. 30 ccm faßte, entspricht dies 0,01% (genauer 0,009%) des Gesamtvolumens. Da man (mit Lupe) Zehntel-Millimeter noch schätzen kann, steigt die Genauigkeit der Abmessung auf 0,001%. Versieht man *a* nach dem Einfüllen mit einer aufgeschliffenen, dicht schließenden Glaskappe, so läßt sich das Gerät mit Erfolg als empfindliches Dilatometer benutzen.

Versuche: In den nachstehenden Tabellen bedeuten η die relative innere Reibung des mit den angegebenen Konzentrationen des fremden Stoffes versetzten Eiweißsoles, η' die Reibung der gleichen Konzentrationen des betreffenden Stoffes in wässeriger Lösung. Die Werte η_{ber} wurden durch Addition von η' zum Reibungswert des amphoteren (halbverdünnten) Eiweißsoles erhalten.

Wie schon Pauli und Handovsky[1]) veröffentlicht haben, zeigt sich bei Zusatz von Traubenzucker zur Eiweißlösung Gleichheit der η- und der η_{ber}-Werte, oder mit anderen Worten: die Kurven für η und η' gehen parallel. Zum Vergleiche sei die Tabelle hier wiederholt:

Tabelle VI.

Konzentration d. Traubenzuckers	η'	η	η_{ber}	$\eta - \eta_{ber}$
0,0 n	1,000	1,068	1,068	$\pm$ 0,000
0,0173 n	1,009	1,076	1,077	− 0,001
0,0346 n	1,016	1,088	1,084	+ 0,004
0,0519 n	1,024	1,095	1,092	+ 0,003
0,0692 n	1,033	1,100	1,101	− 0,001
0,0865 n	1,042	1,108	1,110	− 0,002

Ein ganz anderes Verhalten tritt bei Zusatz von NaOH zum Eiweißsol hervor, wie Tabelle VII erkennen läßt. Die Reibungswerte für pure NaOH sind der Arbeit von A. Kanitz[2]) entnommen, resp. aus den dort enthaltenen Daten interpoliert.

Tabelle VII.

Konzentration d. NaOH	η'	η	η_{ber}	$\eta - \eta_{ber}$
0,0 n	1,000	1,072	1,072	+ 0,000
0,005 n	1,001	1,086	1,073	0,013
0,04 n	1,010	1,115	1,082	0,033
0,05 n	1,012	1,270	1,084	0,186
0,1 n	1,024	1,265	1,096	0,169
0,5 n	1,109	1,320	1,181	0,139

Die Kurve der Reibungsdifferenz geht also bei 0,05 n-NaOH, bis zu welcher Konzentration sich auch die Hemmung der

[1]) Pauli und Handovsky, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 11, 437, 1908.

[2]) Kanitz, Zeitschr. f. physikal. Chem. 22, 336, 1897.

Alkoholfällung erstreckt, durch ein steiles Maximum. Dieser Punkt entspricht der maximalen Konzentration an Eiweißionen.

Die gleichen Beziehungen erkennt man auch, wenn man die oben mitgeteilten Fällungsversuche mit den Resultaten zusammenhält, die Pauli und Handovsky[1]) bei der Messung der Viscosität von Eiweißsolen erhielten, die mit steigenden Konzentrationen von Salzsäure, bzw. Trichloressigsäure, Schwefelsäure, Oxalsäure und Essigsäure versetzt wurden. In allen Fällen gehen die Reibungskurven durch ein Maximum, das mehr oder minder genau mit der Konzentration zusammenfällt, bei der die Alkoholfällung gehemmt wird, mit einziger Ausnahme der Essigsäure, wo die Reibungswerte — gleichfalls in Übereinstimmung mit den Ergebnissen der Alkoholfällung und den daran geknüpften Bemerkungen (siehe oben S. 430) — ohne Knick konstant ansteigen[2]). —

Die Beeinflussung der inneren Reibung einer Lösung durch die Hydratation des gelösten Stoffes wurde an krystalloiden Stoffen vielfach untersucht. Dabei ergab es sich, daß infolge des Zerfalls der Hydrate bei Temperaturerhöhung die Maxima der Reibungskurven resp. die Minima der Fluiditätskurven mit steigender Temperatur immer flacher werden, um von einer gewissen Temperatur aufwärts geradlinig zu verlaufen [Traube[3]), Pagliani und Battelli[4]), Noack[5]), Wijkander[6])]. Das gilt nicht nur für Hydrate, sondern ganz allgemein für Solvate [Kremann und Ehrlich[7]), Tsakalotos[8])].

Diese Eigentümlichkeit steht in voller Übereinstimmung mit den am Eiweiß ermittelten Resultaten (siehe Tabelle VIII).

---

[1]) Pauli und Handovsky, diese Zeitschr. 18, 340, 1909.

[2]) Auch M. H. Fischer (Das Ödem. Deutsch von Schorr und Ostwald. Dresden 1910) findet, daß bei der Quellung von Fibrin in Essigsäure „kein Maximalpunkt erreicht werden kann, über den hinaus so wie bei den ‚starken' Säuren eine weitere Konzentrationszunahme mit einer Verminderung der Quellung verknüpft ist" (S. 25).

[3]) Traube, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 19, 871, 1886.

[4]) Pagliani e Battelli, Atti d. R. Acad. Torino 20, 449, 1885.

[5]) Noack, Wied. Ann. 27, 289, 1886; 28, 666, 1886.

[6]) Wijkander, Wied. Beibl. 3, 8, 1879.

[7]) Kremann und Ehrlich, Sitzungsber. d. Wien. Akad. 116, IIb, 733, 1907.

[8]) Tsakalotos, Bull. Soc. Chim. (IV) 3, 234, 1908.

Diese Beobachtungen wurden (an einem anderen Sol als die oben mitgeteilten Versuche) bei 14,0° und bei 24,5° gemacht. Es sind dies ältere Versuche, welche die Extrapolation auf den Anfangswert der inneren Reibung (siehe S. 434) nicht mit gleicher Genauigkeit gestatten wie die früher angegebenen, bei 25,0° ausgeführten Versuche. Es ist darum der Maximumpunkt der Eiweißlaugenkurven nur durch einen Knick angedeutet, aber die Differenzkurve zeigt auch hier mit gleicher Deutlichkeit das steile Maximum.

Für die pure NaOH wurden bei beiden Temperaturen die gleichen Reibungswerte wie in der vorhergehenden Tabelle benutzt. Das rechtfertigt sich zunächst durch den Umstand, daß die von B. E. Moore (nach Landolt-Börnstein-Meyerhoffers Tabellen) bei 18° bestimmten Werte mit denen von Kanitz (l. c.) übereinstimmen, zum Teile sogar etwas höher liegen, so daß weder die Interpolation für die dazwischen liegende Temperatur von 24,5° noch auch die Extrapolation auf 14,0° ausgeführt werden konnte. Da schließlich die Reibungserhöhung der höheren Konzentrationen eine absolut größere ist, die Werte der Differenzenkurve in den höheren Konzentrationen daher noch tiefer zu liegen kämen, so kommt den durch Subtraktion der für 25° gültigen Werte von Kanitz erhaltenen Differenzwerten für den vorliegenden Zweck Beweiskraft a fortiori zu.

Tabelle VIII.

Konzentration d. NaOH	η'	Versuche bei 14,0°			Versuche bei 24,5°		
		η	η_{ber}	$\eta - \eta_{ber}$	η	η_{ber}	$\eta - \eta_{ber}$
0,0 n	1,000	1,112	1,112	0,000	1,111	1,111	0,000
0,025 n	1,006	1,180	1,118	0,062	1,151	1,117	0,034
0,05 n	1,012	1,362	1,124	0,238	1,349	1,123	0,226
0,083 n	1,020	1,412	1,132	0,280	1,351	1,131	0,220
0,25 n	1,056	1,421	1,168	0,253	1,378	1,167	0,211

Beide Kurven haben ungefähr den gleichen Anfangswert (1,112, resp. 1,111). Während aber die maximale Reibungserhöhung bei 14,0° 0,280 beträgt, erreicht sie bei 24,5° nur den Wert 0,226, wie überhaupt die gegenüber den berechneten Werten auftretenden Reibungserhöhungen bei 24,5° durchwegs geringer sind als bei 14,0°.

Elektrisches Leitvermögen.

Das elektrische Leitvermögen stellt keine von der vorher betrachteten Konstanten völlig unabhängige Größe dar. Denn einerseits ist das Leitvermögen einer Lösung nicht nur ein Maß

des Dissoziationsgrades des gelösten Stoffes, sondern auch der inneren Reibung des Lösungsmittels (Pissarjewski und Lemcke)[1]), andererseits steht die Wanderungsgeschwindigkeit der Ionen offenbar in direkter Abhängigkeit von dem Widerstande, den sie selbst vermöge ihrer Form und Größe im Lösungsmittel finden (Kohlrausch u. a.)[2]).

Eine Beeinflussung des Leitvermögens auf die erstere Art findet statt, wenn einer Elektrolytlösung ein die Viscosität vermehrender Nichtleiter zugesetzt wird [Arrhenius[3]), Holland[4])]. Eine Leitfähigkeitsverminderung noch stärkeren Grades kommt dann zustande, wenn ein Emulsionskolloid als Zusatz zur Elektrolytlösung gewählt wird [Lüdeking[5]), Dumanski[6]), Frei[7])].

Dagegen hat der Zusatz von Laugen oder Säuren zu Eiweißsolen eine Verminderung des Leitvermögens dieser Elektrolyte (gegenüber ihrer Leitfähigkeit in rein wässeriger Lösung) nach der zweiten Art zur Folge, indem an Stelle rasch wandernder Hydroxyl-, resp. Wasserstoffionen die infolge ihrer Größe und hohen Hydratation besonders langsam wandernden Eiweißanionen, resp. -kationen treten.

Versuchstechnik: Die Bestimmungen wurden nach der Methode von Kohlrausch in einem etwas modifizierten Widerstandsgefäß mit fixen Platinelektroden bei 25,0° ausgeführt. Besondere Sorgfalt erforderte die Herstellung einer entsprechenden Elektroden-Oberfläche. Weder glatte, noch einfach mit Platinmohr überzogene Elektroden konnten verwendet werden: erstere ergaben in den höheren Konzentrationen ganz verwaschene Tonminima des Telephons, letztere bewirkten durch Adsorption der Hydroxylionen schon bei kurzem Stehen eine rapide Verminderung der Leitfähigkeit, besonderes der verdünnteren Laugenlösungen[8]); dagegen erwiesen sich Elektroden als gut verwendbar, die

[1]) Pissarjewski und Lemcke, Zeitschr. f. physikal. Chem. 52, 479, 1905.

[2]) Kohlrausch, Berl. Ber. 1902, 572. Siehe auch die Zusammenstellung bei Washburn, Jahrb. d. Radioakt. u. Elektr. 5, 493, 1908; 6, 69, 1909.

[3]) Arrhenius, Zeitschr. f. physikal. Chem. 9, 487, 1892.

[4]) Holland, Wied. Ann. 50, 261, 1893.

[5]) Lüdeking, Wied. Ann. 37, 172, 1889.

[6]) Dumanski, Zeitschr. f. physikal. Chem. 60, 553, 1907.

[7]) Frei, Koll.-Zeitschr. 6, 94, 1910.

[8]) Auch Winkelblech (Zeitschr. f. physikal. Chem. 36, 558, 1901) beobachtete eine Abnahme der Leitfähigkeit von NaOH beim Stehen im Widerstandsgefäße.

nach der von Wetham[1]) angegebenen Weise behandelt worden waren. — Die nach der Untersuchung einer jeden Lösung wiederholten Kapazitätsbestimmungen des Widerstandsgefäßes lehrten, daß sich seine Kapazität, dank der vorsichtigen Behandlung, durch mehrere Wochen hindurch fast gar nicht änderte.

Da das Widerstandsgefäß in einem rings mit Filz umkleideten Ostwaldschen Thermostaten hing, konnte noch bessere (praktisch vollkommene) Temperaturkonstanz, als wie oben bei der inneren Reibung angegeben, — bei gleicher Temperaturempfindlichkeit beider Größen — erzielt werden. Andererseits wurde durch möglichst rasche Ablesungen auf der Brücke eine Erwärmung der Lösung durch den durchgehenden Strom vermieden.

Das Wasser, das zum Verdünnen der Ausgangslösungen benützt wurde und durch abermalige Destillation von destilliertem, von Kohlensäure befreitem Wasser aus einem ausschließlich für diesen Zweck reservierten, gut verzinnten Destillierapparat unter Verwerfung des ersten und letzten Destillationsanteiles gewonnen war, zeigte eine spezifische Leitfähigkeit von ca $2 \cdot 10^{-6}$. Es erschien sohin unnötig, die dadurch bewirkte Leitfähigkeitsänderung besonders in Rechnung zu ziehen.

Ebenso wie die Werte der inneren Reibung zeigen auch die Leitfähigkeitswerte der Laugen-Eiweißgemische eine allmähliche Änderung, und zwar eine (von der Leitfähigkeitsabnahme der puren Lauge unabhängige) Verminderung mit der Zeit (siehe weiter unten). Auch hier sind also die Anfangswerte der Leitfähigkeit der Laugen-Eiweißlösungen durch graphische Extrapolation gewonnen.

Versuche: In den nachstehenden Tabellen bedeuten k die spezifische Leitfähigkeit des mit den angegebenen Konzentrationen des fremden Stoffes versetzten Eiweißsoles, k' die spezifische Leitfähigkeit der gleichen Konzentrationen des betreffenden Stoffes in wässeriger Lösung. Die unter k_{ber} verzeichneten Werte wurden durch Addition von k' zum Leitfähigkeitswert des amphoteren (halbverdünnten) Eiweißsoles erhalten.

Tabelle IX.

Leitfähigkeit von Salz-Eiweißsolen bei 25,0°.

Konzentration KCl	k'	k	k_{ber}	$k_{ber} - k$
0,00 n	0,00000	0,00007	0,00007	0,00000
0,01 n	141	141	148	7
0,03 n	410	406	417	11
0,05 n	669	663	676	13

[1]) Wetham, Zeitschr. f. physikal. Chem. **33**, 344, 1900.

Das wirkliche Leitvermögen der Neutralsalz-Eiweißmischung ist also kleiner als die Summe aus den Leitfähigkeitswerten seiner Bestandteile. Die Verminderung ist infolge der geringen Konzentration des Eiweißsoles recht klein und wächst mit dem Salzgehalt, als dessen einfache Funktion sie erscheint. Ein ganz anderes Bild bieten die in der folgenden Tabelle zusammengefaßten Versuche.

Tabelle X.

Leitfähigkeit von Laugen-Eiweißsolen bei 25,0°.

Konzentration d. NaOH	k'[1])	k	k_{ber}	$k_{ber} - k$
0,0 n	0,000000	0,000142	0,000142	0,00000
0,005 n	,··1119	,··0417	,··1261	,··084
0,0125 n	,··2739	,··1465	,··2881	,··142
0,037 n	,··7837	,··5425	,··7979	,··255
0,0468 n	,··9655	,··7188	,··9791	,··261
0,1 n	,·20165	,·1833	,·2031	,··198
0,125 n	,·2491	,·2326	,·2505	,··179
0,25 n	,·4872	,·4806	,·4886	,··080

Hier geht die Kurve der Leitfähigkeitsverminderungen, deren absolute und relative Beträge jetzt viel bedeutender sind, mit wachsendem Laugengehalte durch ein Maximum, und zwar bei jener Laugenkonzentration, bei der auch maximale Hemmung der Alkoholfällbarkeit und maximale Steigerung der inneren Reibung stattfindet.

II. Die Zustandsänderungen des laugenhaltigen Eiweißsoles mit der Zeit.

Es wurde schon oben im Zusammenhange mit technischen Bemerkungen darauf hingewiesen, daß die Werte der inneren Reibung und des Leitvermögens von Laugeneiweißgemischen von einem gewissen Laugengehalte aufwärts einer gesetzmäßigen Änderung mit der Zeit unterliegen, so daß eine Extrapolation auf den Anfangswert (zur Zeit der Mischung) möglich wird. Die folgenden Seiten beschäftigen sich mit einer genaueren Betrachtung dieser Erscheinungen.

---

[1]) Die Leitfähigkeit der puren Lauge wurde nur für die Konzentration 0,1 n bestimmt und die anderen Werte daraus extrapoliert.

Tabelle XI.

Dialysiertes Rinderserum.

A. Messungen bei 25,0°.

Zeitdauer seit erfolgter Mischung	0,04 n-NaOH	0,05 n-NaOH	0,1 n-NaOH	0,5 n-NaOH
{extrapol. Anfangswert}	1,115	1,281	1,265	1,320
5′			1,270	
8′			1,272	1,375
13′				1,408
15′		1,284		
16′			1,282	
25′	1,117			
27′				1,439
30′		1,288		
34′			1,300	
36′				1,436
1h 0′	1,120	1,296		
1h 38′			1,353	
2h 17½′			1,378	
13h 0′		1,361		
14h 0′				1,259
17h 0′			1,416	
17h 5½′			1,426	
17h 8′			1,418	
18h 8′			1,408	
22h 0′		1,374		
23h 0′				1,229
25h 0′	1,107			
37h 0′		1,356		1,213
41h 0′	1,105			
46h 0′		1,347		

B. Messungen bei 24,5°.

Zeitdauer seit erfolgter Mischung	0,05 n-NaOH	0,083 n-NaOH	0,25 n-NaOH
(extrapol. Anfangsw.)	1,349	1,351	1,378
5′35″		1,374	
7′30″			1,451
8′20″		1,386	
11′10″		1,397	
13′30″			1,508
14′ 0″		1,411	
14′30″			1,517
16′45″		1,418	1,539
19′40″		1,430	1,554
21′30″			1,563
22′35″		1,441	
27′30″			1,583
28′25″		1,456	
30′ 0″	1,349		
31′40″		1,471	
33′30″			1,594

Tabelle XI (Fortsetzung).

Zeitdauer seit erfolgter Mischung	0,05 n-NaOH	0,083 n-NaOH	0,25 n-NaOH
36′ 30″			1,624
37′ 40″		1,488	
40′ 30″			1,607
1h 9′ 30″		1,542	1,581
1h 27′ 30″		1,567	
1h 30′ 0″			1,567
1h 48′ 30″			1,557
1h 54′ 0″		1,578	
2h 22′ 0″		1,588	
2h 37′ 0″		1,595	
2h 51′ 30″		1,612	
3h 5′ 0″		1,594	
3h 41′ 0″		1,586	
4h 13′ 0″		1,580	1,465
4h 45′ 0″			1,451
5h 20′ 0″			1,425
5h 55′ 0″			1,412
24h 0′ 0″	1,408	1,512	
33h 0′ 0″			1,318
46h 0′ 0″	1,272		
46h 30′ 0″	1,264		
48h 0′ 0″		1,475	
49h 30′ 0″	1,244		
55h 0′ 0″			1,290
56h 0′ 0″			1,285
72h 0′ 0″	1,221		
105h 0′ 0″	1,206		

C. Messungen bei 14,0°.

Zeitdauer seit erfolgter Mischung	0,083 n-NaOH	0,25 n-NaOH
(extrapol. Anfangswert)	1,412	1,421
3′ 30″		1,463
7′ 30″		1,486
9′ 0″	1,424	
11′ 30″		1,507
15′ 30″		1,533
16′ 0″	1,431	
19′ 30″		1,554
20′ 30″	1,439	
23′ 30″		1,575
27′ 30″		1,593
32′ 0″	1,449	
56′ 0″	1,482	
1h 43′ 0″	1,536	
1h 50′ 0″		1,717
1h 57′ 30″	1,554	
2h 0′ 0″		1,717
2h 3′ 0″	1,557	

Tabelle XI (Fortsetzung).

Zeitdauer seit erfolgter Mischung	0,083 n-NaOH	0,25 n-NaOH
2h 37′ 0″	1,590	
3h 15′ 0″		1,705
6h 15′ 0″		1,655
17h 0′ 0″	1,662	
19h 0′ 0″	1,654	
24h 0′ 0″	1,643	

Innere Reibung[1]).

Bei den hier in Betracht kommenden Laugen-Eiweißgemischen steigt die innere Reibung allmählich bis zu einem Maximum an, auf dem sie kürzere oder längere Zeit verweilt, um dann wieder tief unter den Anfangswert abzusinken[2]). Die Höhe des Anstiegs und die Zeitdauer, die zur Erreichung des Maximums notwendig ist, sind von der Konzentration der zugesetzten Lauge (es wurde nur NaOH verwendet), von der Versuchstemperatur und von der Konzentration des Eiweißes weitgehend abhängig.

Da entsprechend den weiter unten folgenden Ausführungen auch der Salzgehalt des Eiweißsoles bei dieser Erscheinung eine wichtige Rolle spielt, so hat der unvermeidliche Elektrolytgehalt der auch weitestgehend dialysierten Seren zur Folge, daß die mit verschiedenen Eiweißsolen gewonnenen Resultate nicht direkt vergleichbar sind.

Die oben geschilderte Erscheinung eines zeitlichen Reibungsmaximums ist in allen Messungsreihen zu beobachten. Aber infolge der Länge der Zeitdauer, die bis zur Erreichung dieses Maximums verstreicht, sind die Messungsreihen notwendigerweise nicht lückenlos, so daß bei einigen nicht mit Sicherheit behauptet werden kann, ob das wirkliche Maximum oder ob benachbarte Werte gerade in den Messungsbereich fielen. Die obigen Tabellen gestatten somit nur qualitative Schlüsse. —

Der Einfluß der Laugenkonzentration des Eiweißsoles für die in Rede stehende Erscheinung kommt in nachstehender Tabelle XII, der die obigen Daten zugrunde liegen, zum Ausdrucke.

[1]) Vgl. die vorläufige Mitteilung von Schorr, diese Zeitschr. 13, 173, 1908.

[2]) Eine fortschreitende Verminderung der Viscosität von Eiweißlösungen wurde von Spriggs (Zeitschr. f. physiol. Chem. 35, 465, 1902) bei Proteolyse mittelst Pepsin und von Bayliss (Journ. of Physiol. 36, 221, 1907) bei tryptischer Verdauung beobachtet.

Tabelle XII.[1])
Einfluß der Laugenkonzentration.

Konzentration der NaOH	Extrapolierter Anfangswert der inneren Reibung η_a	Maximaler beobachteter Wert der inneren Reibung η_{max}	Prozentische Erhöhung $\frac{\eta_{max} - \eta_a}{\eta_a} \cdot 100$
	A. Messungen bei 25,0°.		
0,005 n	gibt konstante Werte		—
0,04 n	1,115	1,120	0,5%
0,05 n	1,281	1,374	8,2 „
0,1 n	1,265	1,426	12,7 „
0,5 n	1,320	1,439	9,0 „
	B. Messungen bei 24,5°.		
0,05 n	1,349	1,408	4,4 „
0,083 n	1,351	1,612	19,3 „
0,25 n	1,378	1,624	17,9 „

Auch hier zeigt sich neuerdings, daß die mit der Zeit erfolgende (prozentische) Erhöhung der inneren Reibung bei steigendem Laugengehalte der Eiweißsole anfangs stärker wird, von einem bestimmten Gehalte ab aber wieder schwächer. Die genaue Laugenkonzentration, bei der diese Reibungserhöhung maximal stattfindet, läßt sich aus den hier vorliegenden Daten direkt nicht entnehmen, wobei noch die im Anschlusse an Tabelle XI geäußerten Bedenken zu berücksichtigen sind. Doch läßt es eine sinngemäße Kombination von A und B der Tabelle XII als wahrscheinlich, zu mindest als unwidersprochen erscheinen, daß die maximale zeitliche (prozentische) Reibungserhöhung der gleichen Laugenkonzentration zukommt, die sich bisher nach allen Methoden als die Konzentration der maximalen Eiweißionenzahl erwiesen hat.

Was den Einfluß der Temperaturerniedrigung auf den behandelten Vorgang anlangt, so zeigt sich zunächst ganz unzweideutig, daß die zur Erreichung des Maximums erforderlichen Zeiten außerordentlich verzögert werden. Durch diesen Umstand werden die Versuchsergebnisse notwendigerweise sehr unvollständig. In beiden bei 14° ausgeführten Versuchsreihen fällt das Maximum in ein Messungsintervall. Doch gibt ein Vergleich des Reibungsanstieges der Lösungen gleichen Laugengehaltes bei den beiden Temperaturen gewisse Aufschlüsse.

[1]) Die Messungen bei 25,0° und bei 24,5° wurden an zwei verschiedenen Eiweißsolen ausgeführt. Vgl. die Bemerkungen zu Tab. VIII, S. 438.

Tabelle XIII.
Einfluß der Temperatur.

Konzentration der NaOH	Versuchsdauer	η bei 14,0°	Prozentische Erhöhung bei 14,0°	η bei 24,5°	Prozentische Erhöhung bei 24,5°
0,25 n-NaOH	extrapolierter Anfangswert	1,421	—	1,378	—
	nach 7′ 30″	1,486	4,6%	1,451	5,3%
	„ 19′ 40″	1,554	9,4%	1,554	12,8%
	„ 27′ 30″	1,593	12,1%	1,583	14,9%
	„ 36′ 30″	keine Beobachtung		1,624 (Maximum)	17,9%
	„ 2h	1,717	20,8%	Reibungsabfall	

Die Zusammenstellung vorstehender Tabelle ergibt also, daß der zeitliche Reibungsanstieg (wenigstens im vorliegenden Falle) bei tieferer Temperatur entsprechend der allgemeinen van't Hoffschen Beziehung zwischen Temperatur und Reaktionsgeschwindigkeit langsamer erfolgt, so daß die Werte der prozentischen Reibungserhöhung bei 14,0° zunächst kleiner sind als die entsprechenden Werte bei 24,5°. Während aber die letzteren (im vorliegenden Falle nach zirka 36 Minuten) ihr Maximum erreicht haben und wieder sinken, nimmt die innere Reibung des bei 14° gehaltenen Soles weiter zu, um schließlich Werte zu erreichen, die den Maximalwert bei 24,5° weitaus übertreffen. Somit ist auch das mit der Zeit auftretende Reibungsmaximum, ganz in Übereinstimmung mit den analogen Ergebnissen im ersten Teile der vorliegenden Mitteilung, um so stärker ausgebildet, je tiefer die Temperatur liegt. —

Schließlich sei noch die Bedeutung der Konzentration des Kolloides für die in Rede stehende Erscheinung in Betracht gezogen.

Da in den extrem dialysierten Seren das Eiweiß ohnehin in schon recht geringer Konzentration enthalten ist und daher eine weitere Verdünnung zu sehr eiweißarmen Lösungen führen würde (vgl. S. 431), so wurde für die Versuche dieses Paragraphen ein Sol verwendet, das man erhielt, indem man das vom Dotter sorgfältig getrennte Eiweiß von mehreren Hühnereiern zu Schaum schlug und die nach 12 bis 24stündigem Stehen unten abgesetzte Lösung abfiltrierte. Der Elektrolytgehalt einer auf diese Weise hergestellten Eiweißlösung ist recht bedeutend;

mit Rücksicht auf diesen Umstand (s. weiter unten) darf man den hier sich ergebenden Resultaten nur mit gewisser Reserve eine allgemeinere Geltung zuschreiben.

Die drei untersuchten Lösungen wurden alle auf den Gehalt von 0,1 n-NaOH gebracht. Die verschiedenen Verdünnungen wurden auf die Weise erzielt, daß

für die Lösung I 3 ccm Eierklar + 3 ccm 0,2 n-NaOH,
„ „ „ II 1 „ „ + 2 „ 0,2 „ + 2 ccm H_2O,
„ „ „ III 1 „ „ + 1 „ 1,0 „ + 8 „ „

gemischt wurden. Die Kolloidkonzentration betrug daher schließlich

in Lösung I 0,5 des ursprünglichen Eiweißgehaltes,
„ „ II 0,2 „ „ „
„ „ III 0,1 „ „ „

Die Versuchsdaten sind in Tabelle XIV enthalten.

Tabelle XIV.

Undialysiertes Eieralbumin bei 24,5°.
0,1 n-NaOH.

Lösung I ca. 6%iges Eiweiß		Lösung II ca. 2,4%iges Eiweiß		Lösung III ca. 1,2%iges Eiweiß	
Zeitdauer seit erfolgter Mischung	Durchströmungszeit[1])	Zeitdauer seit erfolgter Mischung	Durchström.-zeit[1])	Zeitdauer seit erfolgter Mischung	Durchström.-zeit[1])
(extrapol. Anfangswert)	250″	(extrapol. Anfangswert)	165,0″	(extrapol. Anfangswert)	1 (
14′ 30″	341″	29′ 15″	173,2″	11′ 30″	110,3″
21′ 30″	383″	33′ 15″	175,5″	14′ 30″	110,6″
30′ 30″	418″	37′ 0″	177,2″	17′ 15″	111,2″
39′ 30″	446″	41′ 15″	178,4″	20′ 0″	111,6″
49′ 30″	468″	45′ 15″	179,8″	23′ 0″	111,8″
59′ 30″	487″	49′ 15″	180,6″	26′ 0″	112,0″
1h 9′ 30″	505″	53′ 0″	181,4″	28′ 30″	112,2″
1h 20′ 30″	586″	57′ 0″	182,0″	32′ 0″	112,3″
1h 30′ 30″	722″	1h 17′ 30″	184,8″	35′ 30″	112,6″
18h 40′ 0″	865″	1h 33′ 30″	185,0″	39′ 15″	112,4″
19h 38′ 0″	974″	1h 56′ 0″	185,6″	1h 16′ 0″	112,4″
49h 20′ 0″	1500″	2h 4′ 0″	186,2″	1h 19′ 45″	112,1″
74h 21′ 0″	1570″	2h 11′ 45″	185,6″	1h 23′ 0″	112,1″
94h 30′ 0″	1475″	26h 52′ 0″	172,0″	2h 5′ 0″	111,9″
120h 0′ 0″	1292″	26h 57′ 15″	171,2″	2h 10′ 45″	111,8″
120h 24′ 0″	1285″	27h 6′ 15″	170,3″	2h 14′ 0″	111,7″
121h 42′ 0″	1256″	27h 10′ 0″	169,7″	2h 33′ 15″	111,7″
144h 0′ 0″	1237″	27h 15′ 0″	168,8″	26h 0′ 0″	106,3″
145h 0′ 0″	1197″	29h 30′ 0″	161,6″	26h 5′ 0″	106,2″
242h 0′ 0″	1017″	29h 38′ 0″	159,3″	26h 49′ 30″	106,0″
265h 0′ 0″	975″	29h 42′ 0″	138,5″	27h 55′ 30″	106,0″
410h 0′ 0″	947″	29h 56′ 0″	137,6″	27h 58′ 0″	106,0″

[1]) Da die Konstanten der drei Lösungen nur miteinander verglichen werden sollen, so genügt hier die Angabe der Durchströmungszeiten.

Vorstehende Daten lassen gewisse Gesetzmäßigkeiten erkennen, wie die folgende Zusammenstellung erweist.

Tabelle XV.

	Lösung I	Lösung II	Lösung III
Relative Eiweißkonzentration c	5	2	1
Zeitdauer bis zur Erreichung des Maximums	74h	2h 4′	35′ 30″
Extrapolierter Anfangswert τ_a .	250″	165″	107″
Maximale Durchströmungszeit τ_{max}	1570″	186″	112,6″
$\frac{\tau_{max} - \tau_a}{\tau_a} \cdot 100$	528%	12,7%	5,2%
$\frac{\tau_{max} - \tau_a}{\tau_a} \cdot \frac{100}{c}$	106%	6,4%	5,1%

Das Ergebnis läßt sich in folgenden Worten aussprechen: Mit steigender Konzentration des Eiweißes nimmt die zur Erreichung des Reibungsmaximums nötige Zeit, ferner (wie selbstverständlich) die Viskosität der Lösungen und die Stärke des (prozentischen) Reibungsanstieges unverhältnismäßig zu. Besonders kraß fallen die Unterschiede aus, wenn man die Reibungserhöhung berechnet, die der Konzentrationseinheit des Eiweißes zukommt $\left(\frac{\eta_{max} - \eta_a}{\eta_a} \cdot \frac{100}{c}\right)$.

Wie schon eingangs bemerkt, wird die zeitliche Änderung der Reibungswerte durch Neutralsalze weitgehend gehemmt. Tabelle XVI enthält die diesbezüglichen Daten[1]).

Tabelle XVI.
Einfluß des Salzgehaltes.

Zeitdauer seit erfolgter Mischung	0,25 n-NaOH	0,25 n-NaOH + 0,1 m-KNO_3
(extrapoliert. Anfangswert)	126,0″	133,0″
9′	131,9″	—
21′	134,9″	133,0″
32′	136,6″	—
39′	—	133,0″
90′	—	133,1″

Dieses Ergebnis steht in Übereinstimmung mit dem Befunde von Pauli und Handovsky[2]), demzufolge Eiweiß die

[1]) Diese und die folgenden Versuche sind wieder an dialysiertem Albumin ausgeführt.

[2]) Pauli und Handovsky, diese Zeitschr. 24, 241, 1910.

bei einem gewissen Laugengehalte aufgehobene Alkoholfällbarkeit (vgl. oben S. 429 ff.) bei Neutralsalzzusatz wiedergewinnt. Auch M. H. Fischer[1]) gelangte bezüglich der Quellung von Fibrin und Gelatine in Säuren, Laugen und Salzen zum gleichen Resultate.

Tabelle XVII.

Spezifische Leitfähigkeit von Laugen-Eiweißsolen.

Zeitdauer seit erfolgter Mischung	0,0 n-NaOH	0,005 n-NaOH	0,0125 n-NaOH	0,037 n-NaOH	0,0463 n-NaOH	0,1 n-NaOH	0,125 n-NaOH	0,25 n-NaOH
(extrapol. Anfangswert)	0,0001424	0,000417	0,001465	0,005425	0,007188	0,018330	0,023258	0,048055
5′	0,0001031							
9′	0,0001031							
12′					0,0071656			
13′							0,023196	
14′					0,0071614			
15′			0,0014586				0,023172	
17′			0,0014551				0,023168	
18′					0,0071526			
19′								0,048253(?)
20′						0,018299	0,023144	
23′			0,0014543				0,023129	
25′					0,0071326		0,023125	
27′					0,0071297	0,018255	0,023115	
30′								0,047972
31′				0,0054035		0,018248		
36′		0,0004171		0,0053949				
39′					0,0071182	0,018226	0,023068	
42′						0,018208	0,023059	
44′					0,0070983	0,018182		
45′			0,0014481					
56′		0,0004171						
60′						0,018153		
1h 10′			0,0014424	0,0053604		0,018135		
1h 19′								0,047833
1h 24′				0,0053391		0,018088		
2h 4′								0,047776
3h 6′			0,0014346					
6h 25′					0,0069327		0,022738	
7h 35′					0,0067588			
16h 35′						0,017034		
16h 48′				0,0048016				
20h 0′			0,0013384					
24h 0′	0,0001029	0,0004122			0,0063806		0,022410	0,047929
29h 0′					0,0062903			
45h 0′						0,016507		0,046675
51h 0′			0,0012502					
95h 0′				0,0037013		0,015362		
166h 0′						0,014336		

[1]) Fischer, l. c., 28 ff., 41 ff.

Elektrisches Leitvermögen.

Hält man das eingangs besprochene Ergebnis, daß nämlich der zeitlichen Reibungszunahme der Eiweißlösung eine zunehmende Hydratation zugrunde liegt, mit der oben vertretenen Ansicht zusammen, daß Hydratation des Eiweißes eine Begleiterscheinung seiner ionischen Ladung darstellt, so gelangt man zum Schlusse, daß der mit der Zeit erfolgenden Reibungszunahme eine Leitfähigkeitsabnahme entsprechen muß.

Das trifft auch im vollen Umfange zu, wie man aus der vorhergehenden Zusammenstellung (Tabelle XVII) entnehmen kann[1]).

Aus vorstehenden Versuchen läßt sich die Intensität der Leitfähigkeitsabnahme schätzen, wenn man die innerhalb der gleichen Zeit erfolgten Änderungen ins Auge faßt. Dies ist in der folgenden Tabelle versucht worden.

Tabelle XVIII.

Abhängigkeit der Leitfähigkeitsverminderung von der Laugenkonzentration.

Konzentration der NaOH	Extrapol. Anfangswert k_a	Leitfähigkeit nach 7 Std. k	Differenz $k_a - k$	Prozentische Verminderung $\frac{k_a - k}{k} \cdot 100$
0,005 n	0,000 417	0,000 416	0,000 001	0,0%
0,0125 n	0,001 465	0,001 412	0,000 053	3,6%
0,037 n	0,005 425	0,005 129	0,000 306	5,6%
0,0463 n	0,007 188	0,006 763	0,000 425	5,9%
0,1 n	0,018 33	0,017 63	0,000 70	3,8%
0,125 n	0,023 26	0,022 69	0,000 57	2,5%
0,25 n	0,048 06	0,047 65	0,000 41	0,9%

Es zeigt sich somit, daß auch die Leitfähigkeitsverminderung in jener Laugenkonzentration maximal wird, welche die maximale Konzentration von Eiweißionen enthält.

Endlich wurde auch der Einfluß von Neutralsalzzusatz auf die zeitliche Leitfähigkeitsabnahme von Laugeneiweißsolen untersucht.

---

[1]) Vergleiche die analogen Befunde bei Fermenteinwirkung bei Sjöqvist, Skand. Arch. f. Physiol. 5, 277, 1895; 6, 255, 1895; Oker-Blom, ebenda, 13, 359, 1902, und Bayliss, Das Wesen der Enzymwirkung. Deutsch von Schorr. Dresden 1910, S. 28.

Tabelle XIX.

0,03 n-NaOH + 0,1 m-KCl-Eiweiß.

Zeitdauer seit erfolgter Mischung	Brücken-ablesungen	Spezifische Leitfähigkeit
29′	$a = 526{,}95$	
40′	526,95	$k = 0{,}016\,239$
52′	526,9	
1h	527,0	
22h	529,4	0,015 692
23h	529,4	

Auch hier stellt sich also die analoge Beziehung ein, daß nämlich die zeitliche Leitfähigkeitsverminderung durch Neutralsalz gehemmt, bzw. vollkommen aufgehoben wird.

Es wurde auch untersucht, ob sich eine zeitliche Änderung des Gefrierpunktes und des Volumens jener Laugen-Eiweißsole beobachten läßt, deren innere Reibung und Leitfähigkeit erhebliche Änderungen mit der Zeit aufweisen.

*

Tabelle XX.

Gefrierpunkt eines 0,125 n-NaOH-Eiweißsoles.

Zeitdauer seit erfolgter Mischung	Temperatur des Kältebades	Gefrierpunkt
34′	— 3,8°	4,340
46′	— 3,6°	4,339
1h 1′	— 3,6°	4,341
1h 12′	— 3,7°	4,340
1h 43′	— 4,1°	4,338
1h 56′	— 3,9°	4,342
4h 47′	— 4,6°	4,340
5h 27′	— 4,2°	4,342

Zur Volummessung wurde das S. 435 beschriebene Dilatometer verwendet:

Tabelle XXI.

Volumänderung eines 0,1 n-NaOH-Eiweißsoles bei 24,5°.

Zeitdauer seit erfolgter Mischung	Stand des Meniskus
18′	+ 2,4
23′	+ 2,5
39′	+ 2,5

In beiden Fällen erhält man also praktisch konstante Werte. Offenbar sind diese Methoden für die vorliegende kolloidchemische Reaktion inadäquat.

Zur Frage der quantitativen Trennung der organischen Phosphorverbindungen von den Phosphaten in Futtermitteln.

Von

G. Fingerling (Ref.) und A. Hecking.

(Aus der Kgl. Württbg. landw. Versuchsstation Hohenheim.)

(Eingegangen am 1. November 1911.)

Bei der Bedeutung, die die in den Pflanzen enthaltenen Phosphorverbindungen für die Erforschung der Stoffwechselvorgänge der Pflanzen und Tiere besitzen, sind die Bestrebungen verständlich, die einzelnen Gruppen derselben zu trennen und näher kennen zu lernen. So verdanken wir den klassischen Forschungen E. Schulzes und seines Mitarbeiters Winterstein u. a. die Kenntnisse der in den Pflanzen vorkommenden Phosphatide und des Phytins, Körper, die in mehr als einer Beziehung die Aufmerksamkeit auf sich gelenkt haben. Neben diesen Phosphorverbindungen finden sich in den pflanzlichen, und in noch größerem Umfang in den tierischen Produkten phosphorhaltige Proteinstoffe — Nucleoalbumine, Nucleoproteide usw. —. In welchem Umfang in den Vegetabilien auch anorganische Phosphorsäure vorkommt, ist noch ungewiß. Während man früher glaubte, daß die Phosphorsäure in den pflanzlichen Produkten zum größten Teil in anorganischen Bindungen vorhanden sei, wurde dieser Ansicht später widersprochen und das Vorkommen derartiger Phosphorsäureverbindungen in den Pflanzen überhaupt in Abrede gestellt. Der Hauptgrund für diese divergierenden Ansichten liegt in der Mangelhaftigkeit der Untersuchungsmethoden, die je nach dem, ob mehr oder weniger organische Phosphorverbindungen durch die dabei ver-

wendeten Reagenzien zersetzt werden, dementsprechend mehr oder weniger anorganische Phosphorsäure finden lassen.

Von allen in Frage kommenden Verfahren bürgt zweifellos das von E. Schulze und N. Castoro[1]) ausgearbeitete am meisten dafür, daß organische Phosphorverbindungen keine Zersetzung erleiden. Genannte Forscher behandelten fein zerriebenen Samen mit 1%iger Salzsäure in der Kälte, fällten die nach Filtration im Extrakt befindliche anorganische Phosphorsäure durch Chlorcalcium und Ammoniak und behandelten den erzeugten Niederschlag nach dem Abfiltrieren und Auswaschen mit Ammoncitratlösung. Die auf diese Weise in Lösung gegangene Phosphorsäure wurde dann mit Magnesiamixtur gefällt. Da aber bei Verwendung der Ammoncitratlösung eventuell vorhandenes Magnesiumphosphat nicht in Lösung geht, verzichteten die genannten Forscher darauf, dieses Verfahren zu quantitativen Untersuchungen zu benutzen.

Stutzer[2]) vermied diese Fehlerquelle dadurch, daß er zur Lösung des mit Calciumchlorid und Ammoniak erzeugten Niederschlags verdünnte Salpetersäure verwandte und das Schulzesche Verfahren in folgender Weise modifizierte:

„Je 20 g der fein gemahlenen Substanz werden in einem Becherglase mit 20 ccm Alkohol durchfeuchtet, eine Mischung von 20 ccm einer Salzsäure (10% HCl enthaltend) und 160 ccm Wasser hinzugesetzt und unter häufigem Umrühren 3 bis 4 Stunden lang bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Die Flüssigkeit, die 1% HCl enthält, wird durch ein Faltenfilter gegossen und 100 ccm des Filtrates (enthaltend die löslichen Bestandteile von 10 g Substanz) mit einer Lösung von Calciumchlorid und Ammoniak versetzt. Der Niederschlag (Tricalciumphosphat, Dicalciumphosphat, Magnesiumammoniumphosphat) wird mit wenig ammoniakhaltigem Wasser ausgewaschen, in verdünnter Salpetersäure gelöst und die Phosphorsäure durch Molybdän gefällt."

Für Versuche, die sich die Feststellung der Verwertung der verschiedenen Phosphorverbindungen durch den tierischen Organismus zur Aufgabe gestellt hatten, benötigten wir einer Methode, die die Trennung der organischen phosphorhaltigen Stoffe von den anorganischen erlaubte. Wir nahmen hierfür die Stutzersche Modifikation der Schulzeschen Methode in Aussicht, beschlossen aber, vor Beginn unserer Versuche in eine Prüfung der Methode einzutreten, da Stutzer weder Belegmaterial bei-

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 41, 477.

[2]) Diese Zeitschr. 7, 471.

fügt, noch erwähnt, in welcher Richtung und in welcher Weise er die Methode geprüft hat.

Wir verschafften uns die verschiedenen Phosphorverbindungen, und zwar Lecithin, Nuclein (Horbazewski), nucleinsaures Natrium von E. Merck, Phytin von der Gesellschaft für chemische Industrie in Basel; Casein, als Repräsentant eines Nucleoalbumins, stellten wir uns nach der von Hammarsten angegebenen Vorschrift selbst dar. Obige Körper prüften wir sowohl einzeln als in Mischungen mit anorganischen Phosphaten bezüglich ihres Verhaltens bei Behandlung nach der Stutzerschen Vorschrift.

I. Mischung von Nucleoalbumin mit anorganischen Salzen.

1. Versuch.

20 g Casein + 0,4 g $Ca_3P_2O_8$:

in den 0,4 g $Ca_3P_2O_8$ waren enthalten . . . . 0,1648 g P_2O_5,
gefunden auf Grund des Stutzerschen Verfahrens 0,1636 g P_2O_5.

2. Versuch.

20 g Casein + 0,5 g $Ca_3P_2O_8$:

berechnet für 0,5 g $Ca_3P_2O_8$ . . . . . 0,2085 g P_2O_5,
gefunden . . . . . 0,2080 g P_2O_5.

3. Versuch.

Wie Versuch 2, aber ohne Zugabe von Alkohol:

berechnet für 0,5 g $Ca_3P_2O_8$ . . . . . 0,2085 g P_2O_5,
gefunden . . . . . 0,2080 g P_2O_5.

4. Versuch.

20 g Casein + 0,1 g $Ca_3P_2O_8$ + 0,1 g $Ca_2H_2P_2O_8$ + 0,2 g Na_2HPO_4 + 0,1 g NH_4MgPO_4:

berechnet . . . . . 0,1595 g P_2O_5,
gefunden . . . . . 0,1601 g P_2O_5.

5. Versuch.

Wie Versuch 4, aber ohne Zugabe von Alkohol:

berechnet . . . . . 0,1595 g P_2O_5,
gefunden . . . . . 0,1605 g P_2O_5.

Wie aus diesen Zahlen hervorgeht, konnte mittels des Stutzerschen Verfahrens eine quantitative Trennung anorganischer Verbindungen vom Casein erzielt werden. Ob sich die anderen

Nucleoalbumine und diesen ähnliche Verbindungen wie das Casein verhalten, muß durch besondere Versuche ermittelt werden.

II. Mischung von Lecithin, Nuclein, nucleinsaurem Natrium und anorganischen Salzen.

Um festzustellen, ob durch die Extraktion mit Alkohol das Lecithin ohne Zersetzung vollständig in Lösung gebracht werden kann, und durch nachträgliche Behandlung mit 1%iger Salzsäure aus Nucleinen und nucleinsauren Salzen keine Phosphorsäureabspaltung stattfindet, dagegen aus einem derartigen Gemenge die anorganische Phosphorsäure in Lösung geht, benutzten wir zu diesem Versuch folgende Mischung:

1,0084 g Lecithin, 0,5 g Nuclein, 0,5 g nucleinsaures Natrium, 0,5 g $Ca_2P_2O_8$, 0,5 g $Ca_2H_2P_2O_8$ und 1,0 g Na_2HPO_4.

Der alkoholische Auszug ergab nach der Veraschung nach

Neumann . . . . . 0,0597 g P_2O_5,
angewandt als Lecithin . . . . . 0,0601 g P_2O_5.

Das Lecithin ließ sich demnach durch Alkohol vollständig entfernen.

Der Rückstand wurde sodann nach Stutzer weiter behandelt und im salzsauren Auszug gefunden . . . . . 0,5795 g P_2O_5,
berechnet für die Phosphate . . . . . 0,5805 g P_2O_5.

Dieser Befund erlaubt den Schluß, daß eine Abspaltung von Phosphorsäure aus Nuclein und nucleinsaurem Natrium durch die Behandlung mit 1%iger Salzsäure nicht stattgefunden hat, dagegen die anorganische Phosphorsäure aufgelöst worden ist; mithin ergab die Anwendung der Stutzerschen Methode zur Trennung dieser Gruppe brauchbare Ergebnisse.

* * *

Während sich, wie oben dargetan, die Stutzersche Methode bei Verbindungen von Lecithin, Casein, Nuclein und nucleinsaurem Natrium als brauchbar erwiesen hat, ließ sie im Stich, als wir zu der obengenannten Mischung noch Phytin zufügten. Schon E. Schulze[1]) machte darauf aufmerksam, daß Phytin dieselben Reaktionen eingeht wie anorganische

[1]) Landwirtsch. Versuchsstationen 73, 93.

Phosphorsäureverbindungen; es ist in verdünnter Salzsäure löslich, wird durch Ammoniak und Chlorcalcium gefällt, löst sich wieder in verdünnter Salpetersäure und wird schließlich durch Molybdän niedergeschlagen. Die Folge davon ist, daß man sich einer Täuschung hingibt, wenn man bei Futtermitteln, die Phytin enthalten, die auf Grund der Stutzerschen Methode gefundene Phosphorsäuremenge als anorganische Phosphorsäure anspricht. Die folgenden Versuche zeigen dies deutlich:

Wir gaben zu einem Gemisch, bestehend aus 20 g Casein, 0,5 g Nuclein und 0,5 g nucleinsaurem Natrium, keine anorganischen Phosphorverbindungen, sondern 0,5 g Phytin. Trotzdem fanden wir als anorganische Phosphorsäure 0,0705 g P_2O_5. Bei einem anderen Versuche, bei dem zu einer Mischung von Lecithin, Nuclein, nucleinsaurem Natrium, Dicalciumphosphat, Tricalciumphosphat und Dinatriumphosphat noch Phytin zugegeben wurde, ergab die Bestimmung der anorganischen Phosphorsäure 0,6510 g P_2O_5, während nur 0,5805 g P_2O_5 in anorganischer Form angewendet worden waren; mithin ein Zuviel von 0,0705 g P_2O_5. Auch durch Versuche mit reinem Phytin konnten wir feststellen, daß bis zu 40% der Phytinphosphorsäure, nach Stutzer bestimmt, als anorganisches P_2O_5 zur Wägung kam.

Ziehen wir das Fazit aus unseren Versuchen, so kommen wir zu dem Ergebnis, daß die Stutzersche Methode brauchbar ist für die Trennung der anorganischen Phosphorsäure von Lecithin, Casein, Nuclein und nucleinsaurem Natrium, während sie unrichtige Befunde ergibt, sobald Phytin zugegen ist. Da nun in vielen Vegetabilien nach den E. Schulzeschen Forschungen Phytin vorhanden ist, können wir uns der Stutzerschen Ansicht nicht anschließen, daß seine Modifikation des Schulzeschen Verfahrens zur Trennung der organischen Phosphorverbindungen von den Phosphaten schon „als ausreichend betrachtet werden könne". Jedoch dürfte die Methode nach weiterem Ausbau und entsprechender Modifikation eine geeignete Grundlage zur Lösung der Frage bilden.

Die energetischen Äquivalente der Verdauungsarbeit bei den Wiederkäuern (Schafe).

Von

W. Ustjanzew.

(Aus dem zootechnischen Laboratorium des Land- und Forstwirtschaftlichen Instituts zu Nowa-Alexandria.)

(Eingegangen am 16. Oktober 1911.)

Im Jahre 1910 habe ich Untersuchungen des Stoff- und Energieumsatzes der Wiederkäuer und insbesondere Untersuchungen des Energieverbrauches bei Rauhfutter im Zusammenhange mit der Umgebungstemperatur in Angriff genommen. Diese Untersuchungen bilden die Fortsetzung meiner Arbeit, die ich in dieser Zeitschrift im Jahre 1908 als vorläufigen Bericht veröffentlicht habe („Verwertung der Energie in dem Rauhfutter in Beziehung zur Umgebungstemperatur und zum Ernährungszustande der Kaninchen"). Bei der Bearbeitung dieser Versuche hat mich Prof. Zuntz mündlich und schriftlich mit wertvollen Ratschlägen unterstützt.

Für die zu diesem Zwecke angestellten Respirationsversuche habe ich die Zuntzsche Methode benutzt und tracheotomierte Tiere angewandt. Diese Methode ist nicht nur sehr einfach und sogar für kleinere Laboratorien ausführbar, sondern sie erscheint auch als besonders wertvoll, um den Einfluß der Umgebungstemperatur auf die Ausnutzung der Energie des Rauhfutters festzustellen.

Außerdem erlaubt die Zuntzsche Methode mit genügender Genauigkeit den Verbrauch der Energie zu erforschen, der mit der Nahrungsaufnahme und dem Wiederkäuen der Wiederkäuer verbunden ist, und ermöglicht, den gesamten Verdauungsprozeß des Tieres vom energetischen Standpunkte zu untersuchen.

Bei Verfolgung meiner Hauptaufgabe habe ich gelegentlich und gleichzeitig eine ganze Reihe Beobachtungen über den

Energieverbrauch beim Kauen, Wiederkäuen und der Verdauung der Wiederkäuer, nämlich der Schafe, angestellt.

Schon Lavoisier hat festgestellt, daß die Nahrungsaufnahme die oxydierende Tätigkeit des Organismus erhöht und den Gaswechsel steigert. Aber erst in den achtziger Jahren haben Zuntz-Mering mittels exakter Experimente erwiesen, daß die Steigerung des Sauerstoffverbrauches und der CO_2-Ausscheidung nach der Nahrungsaufnahme durch die erhöhte Verdauungsarbeit bedingt wird. In ihren klassischen Untersuchungen des Stoffwechsels der Pferde bei der Arbeit haben Zuntz gemeinschaftlich mit Hagemann[1]) die Energie quantitativ bestimmt, die ein Pferd bei der Nahrungsaufnahme und der Verdauung verbraucht. Im Zusammenhang mit den physikalischen und chemischen Eigenschaften des Futters ist der Energieverbrauch für die Verdauungsprozesse wesentlich verschieden. Diese Untersuchungen haben eine neue Grundlage zur Beurteilung des Nährwertes verschiedener Futtermittel geliefert. Von nun an war es klar, daß die verdauliche Substanz eines Futtermittels, z. B. des Heus, nicht gleichwertig sein kann mit der verdaulichen Substanz eines anderen Futtermittels, z. B. des Hafers oder des Weizens. Hieraus folgt, daß die verdauliche Substanz noch lange nicht als Maßstab für den Nährwert der Futtermittel dienen kann.

Man kann schon a priori vermuten, daß bei den Wiederkäuern der gesamte Verdauungsprozeß, das Kauen, Wiederkäuen usw., mit einem etwas anderen Energieverbrauch verbunden ist als bei den Pferden. Und tatsächlich geben zuerst J. Pächtner[2]), dann K. Dahm[3]) in ihren Untersuchungen bei Ochsen ein ganz anderes Bild der Verdauungstätigkeit, führen ganz andere Werte der verbrauchten Energie an. Was die Schafe anbetrifft, so bezieht sich auf sie allein nur eine Monographie von O. Hagemann[4]), wo der Autor eine bedeutende Steigerung des Gaswechsels unter dem Einflusse der Nahrungsaufnahme und des Wiederkäuens konstatiert.

In seiner folgenden Arbeit über den Stoffwechsel, die Hagemann gemeinschaftlich mit M. Karpow[5]) auch bei Schafen ausgeführt hat, weist der Autor darauf hin, daß es ihm nicht gelungen ist, tracheotomierte Tiere zu erhalten, d. h. daß die Schafe nach der Tracheotomie infolge Lungenentzündung schnell zugrunde gegangen seien. Hierbei muß ich bemerken, daß es wahrscheinlich zufällige Gründe gewesen sind, die den Tod der Tiere nach der Tracheotomie zur Folge hatten. Meine Erfahrung hat erwiesen, daß Schafe, nämlich Merinoschafe, die ich allein für die Versuchszwecke benutzte, die Tracheotomie sehr gut ertragen, sich schnell erholen und schon nach 15 bis 20 Tagen nach der Operation für Versuche verwendet werden können. Ein Hammel lebt noch heute, viel

[1]) Landw. Jahrb. 27, Ergänzungsbd. III.

[2]) Pächtner, Respiratorische Stoffwechselforschung u. ihre Bedeutung f. Nutztierhaltung u. Tierheilkunde. Diss. 1909.

[3]) Diese Zeitschr. 28.

[4]) Arch. f. Anat. u. Physiol., Suppl.-Bd. 1899.

[5]) Landw. Jahrb. 35, Ergänzungsbd. IV.

länger als ein Jahr nach der Operation, ein anderer lebte auch über ein Jahr und krepierte ganz zufällig. Es ist noch zu erwähnen, daß meine Tiere oft einem recht rauhen Regime unterworfen waren, indem sie lange Zeit bei niedriger Temperatur, bisweilen unter 0°, erhalten wurden und dabei karges Futter erhielten.

Der Mangel an Untersuchungen, die den Energieverbrauch unter dem Einflusse der Verdauungsarbeit bei Schafen betreffen, veranlaßte mich, einige von mir erhaltene Ergebnisse zu veröffentlichen.

Meine Beobachtungen der Verdauungsarbeit zerfallen in eine Reihe einzelner Momente:

1. Versuche, die längere Zeit nach der Futteraufnahme, 2. die bei der Futteraufnahme und 3. solche bald nach der Futteraufnahme vorgenommen wurden. Wie bei den Versuchen, die längere Zeit nach der Futteraufnahme, so auch bei denjenigen, die bald nach der Futteraufnahme vorgenommen wurden, stellte ich anfangs Beobachtungen an, die unmittelbar mit sehr kurzen Zwischenpausen aufeinanderfolgten, um die zum Wiederkäuen nötige Arbeit zu registrieren. Bei einer gewissen Beharrlichkeit fällt es nicht schwer, einige aufeinanderfolgende Perioden abzugrenzen, während das Versuchstier entweder sich im Zustande völliger Ruhe befindet oder wiederkäut. Indem man den Sauerstoffverbrauch und die Kohlensäureausscheidung im ersten und letzten Falle miteinander vergleicht, kann man das energetische Äquivalent des Wiederkäuungsprozesses ermitteln. Dieser als Mittel mehrerer Beobachtungen berechnete Energiewert diente in der Folge zur Korrektur in den Versuchen, die während des Wiederkäuens ausgeführt wurden, um den Energieverbrauch für den Ruhezustand zu bestimmen. Die Versuche im nüchternen Zustande wurden stets um 9 Uhr morgens, ungefähr 14 Stunden nach der letzten Futteraufnahme, ausgeführt. Um 10 Uhr bekam der Hammel Futter: Heu, Hafer, Grünfutter u. a.

Es war ferner interessant, zu ermitteln, wie sich der Gaswechsel ändert, wenn verschiedene Futtermittel gegeben werden, aber in Quantitäten, in denen der Gehalt an verdaulichen Nährstoffen ungefähr derselbe bleibt. In diesem Falle wurden die Beobachtungen des Atmungsprozesses nach der Futteraufnahme im Laufe von 4 bis 6 Stunden in bestimmten Zeiträumen angestellt.

Um den Einfluß zu ermitteln, den ein an Zellulose reiches oder armes Futter auf den Gaswechsel ausübt, habe ich zwei parallele Versuche ausgeführt. In einem Versuche erhielt der

Hammel 1000 g Timothyheu, 100 g Weizen und 10 g Salz, in dem anderen 300 g Timothyheu, 400 g Weizen, 50 g Zucker, 50 g Stärke und 10 g Salz. Somit werden im zweiten Versuche 700 g Heu durch 300 g Weizen und 100 g Stärke und Zucker ersetzt. Während der Versuche wurde das Tier in einen besonders dazu konstruierten hölzernen Käfig gestellt, der mit einem kleinen metallenen Troge für Häcksel und Kraftfutter und mit einer krippeähnlichen Vorrichtung für Verabreichung des Rauhfutters versehen war. Zum Auffangen der Exkremente und des Harns wurden an das Tier ein Trichter mit einer Kautschukröhre und ein Sack aus Guttapercha angehängt.

Die Methode von N. Zuntz für Respirationsversuche ist genügend genau in einer Reihe vortrefflicher Arbeiten des Prof. Zuntz selbst und seiner Mitarbeiter Magnus-Levy, Fr. Müller, Loewy, Caspari u. a., und speziell für Versuche mit Rindvieh von J. Pächtner beschrieben. Indem ich hier keine Beschreibung der Zuntzschen Methode anführe, erwähne ich nur einige Einzelheiten. Während der Respirationsversuche atmete der Hammel frische Außenluft, die von draußen durch eine Röhre zum Darmventil und dann zur Tamponkanüle geleitet wurde. Die ausgeatmete Luft wurde mit der Trockengasuhr von J. Elster gemessen. 2 bis 3 Minuten nach Beginn des Versuchs wurde angefangen, in einem 230 bis 240 ccm großen gläsernen Behälter die mittlere Luftprobe zu sammeln. Der Behälter wurde vor dem Versuche mit Wasser gefüllt, das einen geringen Säurezusatz erhielt. Der Versuch dauerte gewöhnlich 12 bis 14 Minuten. Der CO_2-, O- und N-Gehalt in der ausgeatmeten Luft wurde stets durch eine Doppelanalyse der Probe mittels des Zuntzschen Analysenapparats festgestellt.

Der Energieverbrauch beim Wiederkäuen.

In der folgenden Tabelle sind Beobachtungen gruppiert, die das Wiederkäuen zweier Hammel betreffen und die zu verschiedener Zeit und bei Fütterung mit verschiedenen Futtermitteln erzielt worden sind. Eine charakteristische Eigentümlichkeit dieser Versuche ist die, daß der Energieverbrauch beim Wiederkäuen mittels Vergleichung zweier unmittelbar aufeinanderfolgender Beobachtungen der Atmung des Tieres im Ruhezustand und beim Wiederkäuen festgestellt wurde.

Tabelle I.

Datum	Futter	Atemvolumen pro Min. abgeles. an der Gasuhr l	Atemvolumen pro Min. reduz. 0°, 760 mm Hg und Trockenh. l	Zuwachs an CO_2 %	O-Defizit %	CO_2-Ausscheidung pro Min. u. Tier ccm	CO_2-Ausscheidung pro Min. u. kg Tier ccm	O-Verbrauch pro Min. u. Tier ccm	O-Verbrauch pro Min. u. kg Tier ccm	Respir. Quotient	Cal.-Verbrauch pro Min. u. kg Tier	Differenz Cal.	Bemerkungen
1910 16. II.	150 g Hafer 100 g Heu 450 g Stroh	5,53	5,31	3,40	4,22	180,54	4,150	224,08	5,151	0,80	24,76		Ohne Wiederkäuen
	100 g Zucker u. Stärke 30 g Casein Lebendgewicht 43,5 kg	5,73	5,51	3,69	4,66	203,32	4,674	256,76	5,903	0,79	28,31	3,55	Wiederkäuen
25. III.	400 g Hafer 800 g Timothyheu	5,83	5,45	3,61	4,34	196,74	4,629	236,53	5,565	0,83	26,86		Ohne Wiederkäuen
	10 g Kochsalz Lebendgewicht 42,5 kg	6,81	6,39	3,37	4,24	225,44	5,304	270,93	6,375	0,82	30,81	3,95	Wiederkäuen
29. III.	Dasselbe Futter Lebendgewicht 42,7 kg	5,85	5,56	3,30	4,11	183,48	4,297	228,51	5,351	0,80	25,73		Ohne Wiederkäuen
		6,71	6,39	3,41	4,22	217,90	5,103	269,66	6,196	0,81	29,86	4,13	Wiederkäuen
17. II. abends	Futter dasselbe wie 16. II. Lebendgewicht 43,5 kg	4,73	4,55	3,64	4,87	165,62	3,807	221,58	5,093	0,75	24,17		Ohne Wiederkäuen
		5,17	4,98	3,60	5,19	179,28	4,121	258,46	5,942	0,69	27,77	3,60	Wiederkäuen
20. X.	1100 g Timothyheu Lebendgewicht 49,7 kg	6,60	5,98	3,73	4,23	223,05	4,487	252,95	5,089	0,88	24,97		Ohne Wiederkäuen
		6,91	6,24	3,96	4,60	247,19	4,974	287,04	5,775	0,86	28,19	3,22	Wiederkäuen
21. X.	1100 g Timothyheu Lebendgewicht 49,4 kg	6,70	6,05	3,69	4,29	223,24	4,519	259,54	5,253	0,86	25,64		Ohne Wiederkäuen
		7,32	6,60	3,91	4,60	257,46	5,211	303,60	6,145	0,85	29,92	4,28	Wiederkäuen
1911 1. III.	300 g Heu 400 g Weizen	6,50	5,96	3,29	3,70	196,08	3,763	220,52	4,232	0,89	20,82		Ohne Wiederkäuen
	100 g Zucker u. Stärke 10 g Salz Lebendgewicht 52,1 kg	7,66	7,02	3,32	3,80	233,06	4,473	266,76	5,120	0,87	25,05	4,23	Wiederkäuen
13. III.	1000 g Heu 100 g Weizen	6,36	5,98	3,49	4,09	208,70	4,005	244,58	4,694	0,85	22,81		Ohne Wiederkäuen
	Lebendgewicht 52,1 kg	7,18	6,74	3,60	4,33	242,64	4,657	291,84	5,601	0,83	27,13	4,32	Wiederkäuen
17. III.	Dasselbe Futter Lebendgewicht 52,5 kg	7,56	6,98	3,35	3,71	233,83	4,453	258,96	4,932	0,90	24,32		Ohne Wiederkäuen
		8,28	7,61	3,56	3,96	270,91	5,160	301,35	5,740	0,90	28,32	4,00	Wiederkäuen
	Im Mittel										24,45		Ohne Wiederkäuen
											28,37	3,92	Wiederkäuen

Die angeführten Versuche erweisen, daß das Wiederkäuen des Futters den Energieverbrauch im Durchschnitt um 3,92 cal. in 1 Minute pro 1 kg Lebendgewicht erhöht, was 11,9% des durchschnittlichen Energieverbrauchs im Ruhezustand beträgt. Die verhältnismäßig geringen Schwankungen der Ergebnisse einzelner Versuche werden offenbar nicht durch den Charakter des Futters und den Moment der Beobachtung, sondern durch zufällige Umstände bedingt. Da die Messungen bei genau gleichem Verdauungsstadium ausgeführt wurden, so erscheint unzweifelhaft die Steigerung des Energieverbrauchs als ausschließliches Resultat der Arbeit des Tieres, die es zum Wiederkäuen des Futters anwenden muß.

Wenn wir die von mir erhaltenen energetischen Äquivalente für das Wiederkäuen der Hammel mit den von Dahm und Pächtner beim Rinde angestellten Beobachtungen vergleichen, so sehen wir, daß zwischen ihnen kein großer Unterschied besteht. Pächtner konstatiert unter dem Einflusse des Wiederkäuens eine Steigerung des Sauerstoffverbrauchs um 13,6%, was einer Steigerung des Wärmewechsels um 9% entspricht, da R. Q. in den Wiederkäuungsversuchen um 0,07° niedriger ist. Dahm hat auf Grund einer Vergleichung des O_2-Verbrauchs beim Wiederkäuen und im Ruhezustand längere Zeit nach der Futteraufnahme das energetische Äquivalent für das Wiederkäuen auf 2,9 cal. pro 1 kg Lebendgewicht in 1 Minute berechnet und betrachtet dies als einen maximalen Wert. Bei der Berechnung der Arbeit des Wiederkäuens in einem einigermaßen gleichen Verdauungsstadium ermittelte Dahm auf Grund zweier Messungen etwas geringere Energiewerte, nämlich 2,6 cal. und 2,45 cal.

O. Hagemann hat auf Grund seiner Beobachtungen an Schafen die durchschnittliche Steigerung des Sauerstoffverbrauchs unter dem Einflusse des Wiederkäuens im Vergleich zum nüchternen Zustande auf 6,7% berechnet. In einigen von Prof. Hagemann ausgeführten Versuchen ist übrigens der Sauerstoffverbrauch ein bedeutend größerer. Zum Beispiel im Versuche vom 22. April 1897, Nr. 8, wurden im Ruhezustand pro 1 kg Lebendgewicht in 1 Minute 4,257 ccm Sauerstoff verbraucht, und im folgenden Moment des Wiederkäuens 5,329, was eine Steigerung um 1,072 ccm oder um 25% ausmacht;

in einem anderen Versuche vom 23. April, Nr. 9, betrug die Steigerung 0,620 ccm oder 14,6%.

Weiter führe ich die Ergebnisse eines Versuches an, während dessen der Hammel eine tägliche Ration aus 1000 g Timothyheu und 100 g zerkleinerten Weizens erhielt. Daraus ersehen wir, daß die Wiederkäuung des Futters täglich 393 Minuten dauerte. Wenn wir den von mir ermittelten Energieverbrauch von 3,92 cal. pro 1 kg Lebendgewicht in 1 Minute annehmen, so können wir berechnen, daß zum Wiederkäuen eines Kilogramms Heu ungefähr (3,92 cal. × 393 × 52,5) = 80,85 Cal. nötig sind.

Ermittlungen der Kauarbeit.

In der folgenden Tabelle habe ich die Ergebnisse von 18 Messungen der Kauarbeit gruppiert, die ich zu verschiedener Zeit bei verschiedenen Futtermitteln festgestellt habe. Für diese Versuche wurde Timothyheu angewandt, das entweder lang oder fein gehäckselt, entweder allein oder mit einer geringen Zugabe von gemahlenem Weizen verfüttert wurde. Der in einer Menge von 500 bis 550 g verabreichte Heuhäcksel wurde mit einem doppelten Gewichtsquantum heißen Wassers begossen und nach der Abkühlung verfüttert. Außerdem wurden Versuche mit Rübenhäcksel, mit ganzen Haferkörnern und mit Grünfutter — Wicke, Luzerne und jungem Rotklee — ausgeführt. Die Kauarbeit wurde berechnet mittels Vergleichung des Sauerstoff- und des Energieverbrauchs des Versuchstieres, im Ruhezustand längere Zeit nach der Futteraufnahme und während des Fressens. Die Beobachtungen der Atmung im nüchternen Zustande wurden zwischen 9 bis 9½ Uhr morgens, 13 bis 14 Stunden nach der letzten Fütterung, ausgeführt. Um 10 Uhr wurde eine genau abgewogene Futtermenge verabreicht und nach 2 bis 3 Minuten begann die Messung des Gaswechsels, die 11 bis 14 Minuten dauerte. Nach 15 bis 25 Minuten wurde das Futter fortgenommen, abgewogen und nach der Differenz die Menge des in diesem Zeitraum aufgefressenen Futters bestimmt. Die Futterrückstände wurden dem Tiere wieder verabreicht. Alle Futtermittel wurden vom Tiere gierig verzehrt. Eine Ausnahme bildeten nur Rüben, die der Hammel ungern fraß.

Tabelle II.

Nr. des Versuchs	Datum	Futter	Lebendgewicht	Atemvolumen pro Min. abgeles. an der Gasuhr l	Atemvolumen pro Min. reduz. 0°, 760 mm Hg und Trockenh. l	Zuwachs an CO_2 %	O-Defizit %	CO_2-Ausscheidung pro Min. u. Tier ccm	CO_2-Ausscheidung pro Min. und 1 kg Tier ccm	O-Verbrauch pro Min. u. Tier ccm	O-Verbrauch pro Min. und 1 kg Tier ccm	Respir. Quotient	Cal.-Verbrauch pro Min. u. 1 kg Tier	Differenz Cal.	Bemerkungen
1	1910 15. IV.	Nüchtern 500 g Timothyheu als Häcksel	Ham. I 44,5 kg	6,20 9,56	5,85 9,02	2,81 2,92	3,78 3,76	164,38 263,38	3,694 5,918	221,13 339,15	4,969 7,621	0,74 0,78	23,52 36,60	13,08	frißt 160 g (Trock. = 470 g) in 30 Min. 1 kg Heu in 64 Min.
2	16. IV.	Nüchtern 500 g Timothyheu lang	Ham. I 44,2 kg	6,25 10,34	5,87 9,71	2,94 2,86	3,67 3,60	172,57 277,70	3,904 6,282	215,43 349,56	4,873 7,910	0,80 0,79	23,43 37,93	14,50	frißt 200 g in 23 Min. 1 kg Heu in 115 Min.
3	21. X.	Nüchtern 550 g Timothyheu als Häcksel	Ham. II 49,7 kg	6,47 10,14	5,86 9,17	3,49 3,40	4,36 4,30	204,51 311,78	4,114 6,273	255,49 394,31	5,172 7,980	0,80 0,79	24,86 38,27	13,41	frißt 1270 g = Trock. 428 g in 23 Min. 1 kg in 54 Min.
4	20. X.	Nüchtern 550 g Timothyheu lang	Ham. II 49,7 kg	6,46 9,52	5,87 8,63	4,14 3,79	5,22 4,73	243,02 327,08	4,889 6,581	306,41 408,20	6,165 8,213	0,79 0,80	29,56* 39,48	13,84	* Wiederkäuen Ohne Wiederkäuen (29,56 — 3,92) = 25,64 Cal., frißt 270 g in 30 Min. 1 kg Heu in 111 Min.
5	1911 13. III.	Nüchtern 500 g Heu und 50 g Weizen	Ham. II 52,5 kg	6,66 9,83	6,12 9,03	3,00 3,41	3,63 4,05	183,60 307,92	3,497 5,865	221,15 365,71	4,212 6,965	0,82 0,84	20,35 33,82	13,47	frißt 1200 g in 25 Min. Trock. = 410 g 1 kg in 60 Min.
6	16. III.	Nüchtern Dasselbe Futter	Ham. II 52,5 kg	7,20 10,96	6,56 9,98	2,46 2,95	3,26 3,56	161,37 294,41	3,073 5,607	213,85 355,29	4,073 6,767	0,76 0,83	19,38 32,78	13,40	frißt 1140 g in 25 Min. Trock. = 385 g 1 kg in 65 Min.
7	13. I.	Nüchtern 550 g Timothyheu als Häcksel	Ham. II 56 kg	4,80 8,40	4,44 7,74	4,77 4,70	6,64 5,98	211,79 363,78	3,782 6,496	294,81 462,85	5,264 8,265	0,72 0,78	24,79 39,54	13,75	frißt 1200 g in 30 Min. Trock. = 390 g 1 kg Heu in 77 Min.
8	24. IV.	Nüchtern 2000 g Rüben gehäckselt	Ham. II 51 kg	6,03 10,50	5,60 9,74	2,84 2,50	3,86 3,05	159,04 243,50	3,118 4,774	216,16 297,07	4,238 5,824	0,73 0,82	20,01 28,14	8,13	frißt 1220 g in 10 Min. 1 kg in 8,2 Min.

9	25. IV.	Nüchtern	Ham. II	6,63	6,18	3,00	4,25	173,48	3,401	240,91	4,723	0,72	22,24		frißt 940 g in 7 Min.
		2000 g Rüben ge-		9,42	8,77	2,77	3,60	242,92	4,763	315,72	6,190	0,80	29,76	7,52	1 kg in 7,4 Min.
10		häckselt	51 kg	11,50	10,64	3,20	3,47	310,48	6,087	369,21	7,238	0,92	35,89	13,65	frißt 160 g in 15 Min.
		Rotkleeheu lang													1 kg in 94 Min.
11	9. V.	Nüchtern	Ham. II	6,62	6,20	3,53	4,59	218,86	4,540	284,58	6,186	0,76	29,43*		* Wiederkäuen
		Rotkleeheu lang	46 kg	10,20	9,53	3,32	4,16	316,39	6,878	396,45	8,618	0,79	41,33	15,82	Ohne Wiederkäuen (29,43 — 3,92) = 25,51 Cal., frißt 160 g in 15 Min. 1 kg in 94 Min.
12	12. V.	Nüchtern	Ham. II	6,20	5,80	3,34	4,22	193,72	4,211	244,76	5,320	0,79	25,51		frißt 350 g in 9,5 Min.
		Hafer	46 kg	9,83	9,22	3,67	4,18	338,37	7,354	385,39	8,378	0,87	41,00	15,49	1 kg in 13,0 Min.
13	11. V.	Nüchtern	Ham. II	6,13	5,76	3,97	4,80	228,67	4,915	276,48	5,943	0,83	28,79*		* Wiederkäuen
		Hafer	46 kg	9,50	8,91	3,55	4,39	316,30	6,802	385,80	8,388	0,82	40,53	15,66	Ohne Wiederkäuen (28,79 — 3,92) = 24,87 Cal., frißt 400 g in 5 Min. 1 kg in 12,5 Min.
14	1910	Nüchtern	Ham. II	6,42	5,98	3,07	4,21	183,58	3,808	251,75	5,223	0,74	24,72		frißt 1450 g in 30 Min.
	25. IX.	Grünfutter, Wicke	48,2 kg	10,05	9,32	3,34	4,05	311,29	6,458	377,46	7,821	0,82	37,80	13,08	1 kg in 20 Min.
		in der Blüte													
15	1911	Nüchtern	Ham. II	6,57	6,10	3,42	4,40	208,62	4,438	268,40	5,710	0,77	27,24		frißt 1450 g in 20 Min.
	14. V.	Grünfutter, Rotklee	47 kg	11,30	10,47	3,11	3,73	325,62	6,928	390,53	8,309	0,83	40,26	13,02	1 kg in 13,8 Min.
		vor der Blüte													
16	16. V.	Nüchtern	Ham. II	5,65	5,34	3,82	4,90	203,99	4,340	261,66	5,567	0,78	26,63		frißt 1160 g in 12 Min.
		Rotklee v. d. Blüte	47 kg	10,44	9,69	3,39	3,85	328,49	6,987	373,06	7,937	0,88	38,94	12,31	1 kg in 10,4 Min.
17	6. IX.	Nüchtern	Ham. II	5,28	4,94	3,78	4,96	186,73	3,458	245,02	4,537	0,76	21,59		frißt 750 g in 15 Min.
		Grünfutter, Luzerne	54 kg	10,11	9,34	3,20	3,91	298,88	5,534	365,19	6,762	0,81	32,59	11,00	1 kg in 20 Min.
		vor der Blüte													
18	18. IX.	Nüchtern	Ham. II	7,50	6,96	2,67	3,41	185,83	3,378	237,33	4,315	0,78	20,64		frißt 275 g in 15 Min.
		Dasselbe, Luzerne,	55 kg	11,33	10,50	2,77	3,41	290,85	5,288	358,05	6,510	0,81	31,38	10,94	1 kg in 54 Min.
		wie Heu													
		Nüchtern	Summe										400,93		
			im Mittel										23,58		
		Fressen	Summe										656,04	12,86 Cal. = 54,5 %	
			im Mittel										36,44		

In der angeführten Tabelle fällt vor allem auf, daß die Steigerung des Energieverbrauchs in 1 Minute infolge der Kauarbeit fast gar nicht von der Beschaffenheit des Futters abhängt. Eine Ausnahme bilden nur die Versuche mit Rübenfütterung. Wie sich aus zwei Versuchen ergibt, verlangt im Vergleich mit anderen Futtermitteln die Rübenfütterung einen weit geringeren Energieverbrauch; und dies läßt sich offenbar dadurch erklären, daß der Hammel Rüben sehr träge fraß. Die Zubereitung des Heus — nämlich das Häckseln und Begießen mit heißem Wasser — übte im Vergleich mit der Verfütterung im ungehäckselten und rohen Zustande auf die Steigerung des Energieverbrauchs in 1 Minute keinen Einfluß aus. Ein Unterschied läßt sich nur in der Zeit feststellen, die zur Aufnahme einer bestimmten Futtermenge nötig ist. Die Steigerung des Energieverbrauchs pro 1 kg Lebendgewicht beträgt in 1 Minute bei Verabreichung nassen Häcksels im Durchschnitt von drei Versuchen (1, 3, 7 siehe Tabelle) 13,41 cal., bei Zugabe einer geringen Menge Weizens 13,43 cal. (5. und 6. Versuch), wobei für 1 kg lufttrockenen Heus im Mittel von 5 Versuchen 64 Minuten erforderlich sind. Indem wir im Durchschnitt für alle 8 Versuche mit Heu ein Lebendgewicht des Hammels von 49,9 kg annehmen, ermitteln wir, daß die Kauarbeit für 1 kg Heu $(13{,}42 \text{ cal.} \times 64 \times 49{,}9) = 42{,}86$ Cal. beträgt. Da in der Lufttrockensubstanz des verfütterten Heus 29,28% Cellulose enthalten waren, so erfordern 1 g derselben für die Kauarbeit 0,15 Cal. Bei der Verfütterung des Heus in unzubereitetem Zustande ist die Steigerung in 1 Minute des Energieverbrauchs dieselbe wie in den vorigen Versuchen, nämlich im Mittel von 2 Versuchen (2 und 4) 14,17 Cal., aber für 1 kg Futter sind schon 113 Minuten erforderlich, oder der Energieverbrauch beträgt $(14{,}17 \times 113 \times 49{,}9) = 79{,}89$ Cal. oder pro 1 g Cellulose 0,27 Cal. Die Verabreichung des langen Kleeheus steigert den Energieverbrauch im Durchschnitt um 14,73 cal. (Versuch 10 und 11), wobei für 1 kg Futter 94 Minuten erforderlich sind, was bei einem mittleren Lebendgewicht von 48,5 kg $(14{,}7 \times 94 \times 48{,}5) = 67{,}15$ Cal. ausmacht, oder pro 1 g Cellulose (24,6%) 0,27 Cal.

Somit steigert die Verabreichung des Rauhfutters, unabhängig von der Zubereitungsmethode, den Stoffwechsel des Hammels um 13,88 Cal. pro Kilogramm Tier und Minute oder um 59,5%.

Diese Zahlen unterscheiden sich nicht viel von den Zahlen für Ochsen, die Pächtner festgestellt hat, der bei ausschließlicher Fütterung mit Heu eine Steigerung des Sauerstoffverbrauchs um 51,4% infolge der Kauarbeit festgestellt hat. Dahm weist darauf hin, daß die Kauarbeit eine Steigerung der Wärmeproduktion hervorruft, die auf 1 kg Lebendgewicht in 1 Minute 7,6 cal. oder 36,5% beträgt. Für 1 kg Heu verbraucht ein Ochse 52,34 Cal., was einen Durchschnitt der von mir gefundenen Größen des Energieverbrauchs bei Verfütterung des Rauhfutters darstellt.

Was das Grünfutter anbetrifft, so ist seine Verfütterung mit einem etwas geringeren Energieverbrauch verbunden. Bei der Verfütterung von Wicke und Luzerne gleicht der Mehrverbrauch der Energie im Mittel von 4 Versuchen in 1 Minute pro 1 kg Lebendgewicht 12,35 cal. oder rund 49%. Aber zur Aufnahme eines Kilogramm Grünfutter ist im Vergleiche mit trockenem Rauhfutter viel weniger Zeit nötig, nämlich Wicke und Luzerne (vor der Blüte) erfordern 20 Minuten, junger Rotklee bloß 10 bis 13 Minuten. Somit ist die Aufnahme eines Kilogramm grüner Luzerne mit einem Energieverbrauch von $(11{,}0 \text{ cal.} \times 20 \times 54) = 11{,}8$ Cal., eines Kilogr. Rotklee mit einem Energieverbrauch von $(12{,}66 \times 12 \times 47) = 7{,}1$ Cal. verbunden. Da in der Luzerne[1]) 26,6% Trockensubstanz und in der letzteren 17,46% Zellulose waren, so erfordert 1 kg Trockensubstanz einen Energieverbrauch von 44,3 Cal. oder 1 g Zellulose 0,25 Cal. Dieselbe Luzerne wurde getrocknet als Heu verabreicht; wie der in der Tabelle angeführte Versuch Nr. 18 zeigt, war die Verfütterung des Heus sogar mit einem geringeren Energieverbrauch verbunden, als die Verfütterung in grünem Zustande. Die Steigerung des Energieverbrauchs in 1 Minute pro 1 kg Lebendgewicht betrug in diesem Falle 10,94 cal., wobei 1 kg Luzerneheu in 54 Minuten verzehrt wurde. Hieraus berechnet sich ein Energieverbrauch von 33,0 Cal. pro 1 kg verabreichten Futters oder 0,19 Cal. pro 1 g Zellulose.

Ein ganz anderes Bild läßt sich bei Verabreichung konzentrierter Futtermittel beobachten. In der Tabelle sind die

[1]) Wie mit grüner, so auch mit getrockneter Luzerne sind einige Versuche ausgeführt worden, die recht übereinstimmende Resultate ergeben haben.

Daten zweier Versuche mit Hafer angeführt. Wohl ist die Steigerung des Energieverbrauchs in 1 Minute bei Haferfütterung noch größer als bei Rauhfutterfütterung, was scheinbar durch den Umstand hervorgerufen wird, daß der Hammel den Hafer mit ungewöhnlicher Gier verzehrte, aber pro 1 kg Futter ist der Energieverbrauch viel geringer bei Hafer, als bei Rauhfutter, nämlich (15,15 cal. $\times$ 12,7 $\times$ 46) = 9,1 Cal. oder pro 1 g Zellulose (10,02%) 0,09 Cal.

Zum Schlusse führe ich eine Tabelle an, die den Energieverbrauch für die Nahrungsaufnahme in Prozent von dem gesamten Energiegehalt des Futters darstellt.

	Gesamtenergie	Kauarbeit
1 kg Timothyheu lang	4890 Cal.	79,89 Cal. = 2,0%
1 „ „ im Häcksel, anfeuchten mit heißem Wasser	3890 „	42,86 „ = 1,1 „
1 kg Hafer	4151 „	9,1 „ = 0,2 „
1 „ Luzerne, Grünfutter . . .	1169,8 „	11,8 „ = 1,0 „
1 „ Luzerneheu	4398 „	33,0 „ = 0,7 „

Wenn wir den von mir für den Hammel bei der Nahrungsaufnahme gefundenen Energieaufwand mit den von Zuntz und Hagemann für das Pferd gefundenen Zahlen vergleichen, so sehen wir, daß die Kauarbeit bei den Wiederkäuern mit einem viel geringeren Energieverbrauch als beim Pferde verbunden ist. Nach den Versuchen der obengenannten Forscher beträgt die Kauarbeit beim Pferd auf 1 g Zellulose im Futter berechnet

bei Heufutter . . . . . 0,66 Cal.
bei Hafer . . . . . 0,41 „
bei Luzerne (im Beginn der Blüte) . 0,37 „

Dieser Unterschied wird bei den Wiederkäuern, wie wir sehen werden, in bedeutendem Maße durch das Wiederkäuen gedeckt.

Die Verdauungsarbeit in Beziehung zu dem Gehalte der Cellulose im Futter.

Die Frage, wie unter dem Einflusse ungleich starker Verdauungsarbeit bei den Herbivoren, indem Rationen mit größerem oder geringerem Cellulosegehalt verabreicht wurden, der Lungengaswechsel sich ändert, wurde zuerst von Zuntz und Hagemann

einer streng wissenschaftlichen Untersuchung unterworfen. Indem diese Forscher den Gaswechsel beim Pferde untersuchten, das ein Futter erhielt, das bald an Cellulose ärmer, bald daran reicher war, berechneten sie die energetischen Äquivalente der Verdauungsarbeit pro 1 g der im Futter befindlichen Cellulose. Vor kurzem hat Dr. Dahm[1]) unter Leitung von Zuntz ähnliche Untersuchungen an einem Ochsen angestellt, wobei sich Resultate ergeben haben, die sich von denen am Pferde recht stark unterscheiden, was auch übrigens zu erwarten war. Um den Einfluß festzustellen, den ein größerer oder geringerer Cellulosegehalt des Futters auf die Verdauungsarbeit der Schafe ausübt, habe ich zwei parallele Versuche ausgeführt. Im ersten erhielt der Hammel täglich 300 g Timothyheu, 40,0 g Weizen, 50 g Stärke, 50 g Zucker und 10 g Salz, im zweiten 1000 g Timothyheu, 100 g Weizen und 10 g Salz. Somit wurden 300 g Weizen und 100 g Stärke und Zucker im zweiten Versuche durch 700 g Heu ersetzt. Leider gelang es nicht, den ersten Versuch genügend lange fortzusetzen. Er währte nur 7 Tage, die 3tägige Vorfütterung mit eingeschlossen. Am 8. Tage hatte der Hammel keinen Appetit und hörte auf, das verabreichte Futter gänzlich zu verzehren, was wohl der sehr geringen Menge des Rauhfutters in der Ration zuzuschreiben ist. Trotzdem ließen sich bis zum letzten Versuchstage keine Störungen in der Exkrementausscheidung beobachten. Infolge der kurzen Dauer des Versuchs war es nicht möglich, die Stickstoffbilanz und die Mengen des verdauten organischen Stoffes genau zu berechnen; die Menge des letzteren wurde von mir annäherungsweise mittels der Daten des 2. Versuchs und der Tabellen berechnet. Ein zweiter Versuch dauerte bei 5tägiger Vorfütterung 12 Tage.

Das Futter wurde zweimal täglich in streng bestimmten Zwischenräumen, nämlich morgens um 10 Uhr und abends um 7 Uhr verabreicht, wobei jedesmal die Hälfte der Ration gegeben wurde. Täglich wurden drei Respirationsversuche ausgeführt, morgens um 9 Uhr im Nüchternzustande, tags nach der Fütterung um 12 bis 1 Uhr und abends um 5 bis 6 Uhr. Auf Grund dieser drei Bestimmungen des Gaswechsels wurde die mittlere tägliche Größe des O-Verbrauchs und der CO_2-Aus-

[1]) Diese Zeitschr. 28.

scheidung berechnet, wie auch der Energieverbrauch pro 1 kg Lebendgewicht in 1 Minute. Bei der Einhaltung der angeführten Bedingungen der Verabreichung des Futters und der Untersuchung des Atmungsprozesses hat man genügend Grund anzunehmen, daß die berechnete mittlere Größe des Energieverbrauchs in beiden Versuchen mit dem wirklichen Stoffwechsel ziemlich genau übereinstimmt. Allenfalls kann man annehmen, daß diese Größen den Gaswechsel des Tieres genügend charakterisieren und uns die Möglichkeit bieten, denselben in beiden Versuchen zu vergleichen.

Jeden Morgen wurde die Temperatur des Tieres und die Umgebungstemperatur bestimmt, dann wurde auch die Zeit notiert, die der Hammel brauchte, um sein Futter zu verzehren. Außerdem wurde in beiden Versuchen während eines Tages von 4 Uhr morgens an die für das Wiederkäuen des Futters nötige Zeit bestimmt.

1. Versuch.

26. Februar bis 5. März.

300 g Heu + 400 g Weizen + 50 g Stärke + 50 g Zucker + 10 g Salz + 1600 ccm heißes Wasser.

Datum	Kot		Harn				Körpertemperatur (morgens nüchtern)	Stalltemperatur	Lebendgewicht	Fressen	Wiederkäuen	Bemerkungen
	frisch	Lufttrock. Substanz	Menge	Menge mit Spülwasser	N	Cal.						
	g	g	ccm	ccm	g		°C	°C	kg	Min.	Min.	
1. III.	585	255,0	570	600	14,54		38,5	14,5	52,4		258	
2. „	455	214,0	540	600	14,16		38,6	15,0				
3. „	398	173,5	500	600	13,02	in 10 ccm 2,810,	38,6	16,0				
4. „	267	112,0	545	600	13,60	z. Stickst. 1:12,6	38,7	15,0	52,0			
Mittel			537	600	13,82	174,25	38,6	15,1	52,2	15,0	258	

2. Versuch.

7. bis 18. März.

1000 g Heu + 100 g Weizen + 10 g Salz + 3000 ccm heißes Wasser.

12. III.	870	346,3	890	1000	12,05		38,9	14,0	52,8			
13. „	1068	422,9	1140	1300	11,68		39,2	15,5				
14. „	1118	355,5	1380	1400	11,77		39,2	16,5				
15. „	1178	437,9	(1020)	(1100)*	—		39,1	15,0	52,3		393	* Ausgegoss. teils
16. „	1147	416,3	980	1100	10,95	in 10 ccm 1,240,	39,2	15,5				
17. „	1103	401,7	950	1100	12,09	z. Stickst. 1:11,9	—	16,5	52,5			
Mittel	1081	396,7	1088	1180	11,70	139,23	39,1	15,5	52,5	64,0	393	

1. Versuch.

Datum	Zeit des Versuchs	Atemvol. pro Min. abgelesen an der Gasuhr l	Atemvol. pro Min. reduziert 0°, 760 mm Hg und Trockenluft l	Zuwachs an CO_2 %	O-Differenz %	CO_2-Ausscheidung pro Min. und Tier ccm	CO_2-Ausscheidung pro Min. und 1 kg Tier ccm	O-Verbrauch pro Min. und Tier ccm	O-Verbrauch pro Min. und 1 kg Tier ccm	Respir. Quotient	Cal.-Verbrauch pro Min. u. 1 kg Tier	Cal.-Verbrauch pro Min. u. 1 kg Tier korrigiert	Durchschnitt pro Tag	Bemerkungen
1. III.	morgens	5,42	5,01	3,66	4,43	183,36	3,512	221,94	4,251	0,82	20,54	20,54		
	am Tage	6,50	5,96	3,58	4,02	213,36	4,087	239,59	4,582	0,89	22,54	22,54	21,55	* Wiederkäuen 3,92 Cal.
	abends	7,14	6,57	3,47	4,19	227,98	4,367	275,28	5,273	0,82	*25,48	21,56		
2. III.	morgens	6,30	5,79	3,28	3,89	189,91	3,638	225,23	4,314	0,84	20,95	20,95		
	am Tage	6,63	6,07	3,52	4,00	213,66	4,093	242,80	4,651	0,88	22,82	22,82	22,46	
	abends	6,76	6,21	3,34	4,12	207,41	3,973	255,85	4,901	0,81	23,62	23,62		
3. III.	morgens	5,87	5,41	3,08	3,77	166,63	3,192	203,95	3,907	0,82	18,88	18,88		
	am Tage	7,14	6,57	3,17	3,66	208,28	3,990	240,46	4,606	0,87	22,54	22,54	21,47	* do.
	abends	7,66	7,06	3,38	4,12	238,63	4,571	290,87	5,571	0,82	*26,92	23,00		
4. III.	morgens	7,13	6,57	3,32	3,72	218,12	4,178	244,40	4,682	0,90	*23,09	19,17		
	am Tage	7,10	6,55	3,21	3,58	210,25	4,027	234,49	4,492	0,90	22,15	22,15	21,08	* do.
	abends	5,43	5,03	3,91	4,70	196,67	3,767	236,41	4,528	0,83	21,93	21,93		
												Durchschnitt pro Versuch	21,64	

2. Versuch.

13. III.	morgens	6,66	6,12	3,00	3,63	183,60	3,495	221,15	4,212	0,82	20,35	20,35		
	am Tage	7,82	7,34	3,65	4,38	276,91	5,103	322,49	6,142	0,83	*29,75	25,83	22,95	* do.
	abends	6,36	5,98	3,49	4,09	208,70	3,975	244,58	4,658	0,85	22,68	22,68		
14. III.	morgens	7,50	6,97	3,57	4,20	248,82	4,739	292,74	5,576	0,87	*27,29	23,37		
	am Tage	7,48	6,97	3,21	3,70	223,74	4,261	257,89	4,912	0,89	24,16	24,16	23,51	* do.
	abends	7,20	6,74	3,07	3,70	206,92	3,941	249,38	4,750	0,83	23,01	23,01		
16. III.	morgens	7,20	6,56	2,46	3,26	161,37	3,073	213,85	4,073	0,76	19,38	19,38		
	am Tage	7,76	7,18	3,76	4,17	269,97	5,142	300,12	5,728	0,90	*28,25	24,33	23,09	* do.
	abends	8,10	7,54	3,56	4,23	268,42	5,112	318,94	6,075	0,84	*29,50	25,58		
17. III.	morgens	6,40	5,91	2,84	3,65	167,84	3,196	215,71	4,109	0,78	19,66	19,66		
	am Tage	8,25	7,61	3,56	3,96	270,91	5,160	301,35	5,740	0,90	*28,31	24,39	22,01	* do.
	abends	7,10	6,51	3,15	3,63	205,06	3,906	236,31	4,501	0,86	21,97	21,97		
												Durchschnitt pro Versuch	22,89	

Täglich wurden von den Exkrementen 200 g als Probe genommen, etwas mit schwacher Salzsäure benetzt und im Trockenapparat (Wasserbade) getrocknet. Nach dem Versuch wurden alle Proben vermischt und in der Mittelprobe der N-, Asche- und Cellulosegehalt bestimmt.

Am 15. März gelang es nicht, alle drei Untersuchungen gänzlich auszuführen.

Die chemische Zusammensetzung der Futtermittel und der Exkremente war folgende.

	Trockensubstanz	Organische Stoffe in der Trockensubstanz	Rohfaser in der Trockensubstanz	Stickstoff in der Trockensubstanz
Heu	86,68%	91,75%	33,78%	1,86%
Weizen . . .	86,53 „	97,70 „	2,20 „	2,80 „
Exkremente .	91,90 „	85,97 „	34,56 „	1,91 „

Die Menge der verdauten organischen Substanz und Cellulose war im 2. Versuch folgende.

2. Versuch.

	Trockensubstanz	Organische Stoffe	Rohfaser	Stickstoff
Heu	866,80 g	795,29 g	292,80 g	16,12 g
Weizen . . .	86,53 „	84,53 „	1,90 „	2,42 „
Summa . . .	953,33 g	879,82 g	294,70 g	18,54 g
Exkremente .	364,56 „	313,41 „	125,99 „	6,96 „
Differenz . .	588,77 g	566,41 g	168,71 g	11,58 g
In %		64,3	57,2	62,4

Stickstoffbilanz im 2. Versuch:

Im Futter aufgenommen . . . 18,54 g

Ausgeschieden:

Im Harn . . . . . 11,70 „
In Exkrementen . . . 6,96 „ } 18,66 g

Bilanz . . . . . — 0,12 g

1. Versuch.

	Trockensubstanz	Organische Stoffe	Rohfaser	Stickstoff
Heu	260,04	238,58	87,84	4,83
Weizen . . .	346,12	338,15	7,61	9,69
Stärke . . .	43,75	43,75	—	0,02
Zucker . . .	50,00	50,00	—	—
Summe . . .	699,91	670,48	95,45	14,54

Indem wir für Heu einen Verdauungskoeffizienten von 64,3 und für Weizen 90,0 annehmen und die Möglichkeit einräumen, daß Stärke und Zucker gänzlich verdaut werden, finden wir, daß die Menge des im ersten Versuch verdauten organischen Stoffes 551,48 g beträgt.

In den oben angeführten Tabellen müssen wir vor allem auf den Unterschied zwischen den Temperaturen des Tieres hinweisen; im ersten Versuch war die Temperatur des Hammels am Morgen im Nüchternzustande etwas niedriger als im zweiten Versuch. Weiter sehen wir, daß das Wiederkäuen wie auch die Kauarbeit im zweiten Versuch weit mehr Zeit erfordern als im ersten Versuch. Dieser Unterschied wird unzweifelhaft hauptsächlich durch die ungleichen physikalischen Eigenschaften des Futters in beiden Versuchen hervorgerufen, nämlich durch das bedeutend größere Volumen der Futterration im zweiten Versuche. Da die Menge des verdauten organischen Stoffes in beiden Versuchen fast gleich war, so ist es klar, daß der

Unterschied im Gaswechsel des Tieres derselben Ursache zuzuschreiben ist.

Bei aufmerksamer Betrachtung der angeführten Tabellen sehen wir, daß die Morgen- und Abenddaten in beiden Versuchen fast gleich sind. Ein wesentlicher Unterschied läßt sich nur tags nach der Futteraufnahme feststellen. In beiden Versuchen tritt unter dem Einfluß der Nahrungsaufnahme eine ziemlich bemerkbare Steigerung des O_2-Verbrauchs und der CO_2-Ausscheidung auf, aber im zweiten Versuch, wo ein voluminöseres Futter verabreicht wurde, ist die Steigerung des Energieverbrauchs größer als im ersten Versuch, nämlich um 2,16 Cal.

Indem wir als die Größe des Energieverbrauchs in 1 Minute pro 1 kg Lebendgewicht im ersten Versuch 21,64 Cal., im zweiten Versuch 22,89 Cal. annehmen und das mittlere Gewicht des Tieres, die für die Kauarbeit und das Wiederkäuen nötige Zeit in Betracht ziehen, ermitteln wir den Gesamtverbrauch.

1. Versuch.

Tagesverbrauch . .	21,6 cal.	×	1440	× 52,2 =	1623,6	Cal.
Kauarbeit	12,86 „	×	15	× 52,2 =	10,0	„
Wiederkäuen . . .	3,92 „	×	258	× 52,2 =	52,8	„
				Summa	1686,4	Cal.

2. Versuch.

Tagesverbrauch . .	22,89 cal.	×	1440	× 52,5 =	1730,4	Cal.
Kauarbeit	12,86 „	×	64	× 52,5 =	43,2	„
Wiederkäuen . . .	3,92 „	×	397	× 52,5 =	81,7	„
				Summa	1855,3	Cal.

Somit war im zweiten Versuch der Gesamtaufwand um 168,9 Cal. größer. Da die Menge der verdauten organischen Substanz in beiden Versuchen fast gleich war, so ist der Mehraufwand in dem Heuversuch der erhöhten Arbeit der Verdauungsorgane infolge des größeren Cellulosegehalts in der Ration zuzuschreiben. Die Cellulosemenge war im zweiten Versuch um 199 g höher. Hieraus folgt, daß der Mehraufwand der Energie pro 1 kg Cellulose 0,84 Cal. beträgt. Die Arbeit des Kauens und Wiederkäuens war im zweiten Versuch um 62,1 Cal. größer, was pro 1 g Cellulose 0,31 Cal. ausmacht. Die Differenz, die 0,53 Cal. beträgt, kommt der Verdauungsarbeit zu.

Diese für die Arbeit der Verdauungsdrüsen festgestellten Energiewerte unterscheiden sich wenig von denjenigen, die K. Dahm in seinen Versuchen mit Ochsen erhalten hat. Dieser Forscher hat bestimmt, daß die Kau- und Wiederkäuungsarbeit pro 1 g der im Futter enthaltenen Cellulose 0,14 Cal., die Verdauungsarbeit aber 0,5 Cal. ausmacht. Meine Versuche bestätigen wiederum die Tatsache, daß bei den Wiederkäuern der Energieverbrauch für die Prozesse der Aufnahme und Verdauung des Rauhfutters weit geringer ist als bei Pferden, die nach Zuntz und Hagemann für die Verdauungsarbeit 2,09 Cal. pro 1 g Cellulose nötig haben. Hiernach ist es klar, daß der Produktionswert des verdauten Stoffes im Rauhfutter bei den Wiederkäuern größer ist als bei Pferden.

Um zuletzt die Veränderung des Gaswechsels nach der Nahrungsaufnahme beim Verfüttern von verschiedenen Futterarten zu untersuchen, stellte ich eine Reihe von Versuchen mit Hafer, Wiesenheu, Rotkleeheu und auch mit Grünfutter an. Alle Futterarten wurden in Mengen von ungefähr gleichem Gehalt an verdaulicher organischer Substanz gegeben. Jeder Versuch dauerte 3 bis 4 Tage; dabei wurden die Respirationsversuche zuerst mit dem nüchternen Tiere und dann nach einem bestimmten Zeitraum nach dem Fressen angestellt. In den folgenden Tabellen führe ich die Resultate derjenigen Versuchstage an, an denen der Gaswechsel am vollständigsten beobachtet werden konnte.

Diese Zahlen zeigen uns mit genügender Klarheit, wie groß der Unterschied zwischen der Intensität der Verdauungsprozesse beim Verfüttern von konzentriertem und Rauhfutter ist. Bei Verabreichung von Hafer steigt der Energieverbrauch nach dem Fressen pro 1 kg Lebendgewicht und 1 Minute um 1,5 cal., und schon nach 3 Stunden wird der Gaswechsel mit dem am Morgen vor der Nahrungsaufnahme beobachteten gleich. Bei Verfütterung von Rauhfutter steigt der Energieumsatz viel stärker und dauert auch längere Zeit an. So steigt bei der Verfütterung von Kleeheu der Energieverbrauch pro 1 kg und 1 Minute um 3,38 Cal., und erst nach 7 bis 8 Stunden fällt der Energieumsatz auf das frühere Niveau wie im Nüchternzustande.

Zeit nach Aufnahme der Nahrung	Atemvol. pro Min. abgelesen an der Gasuhr l	Atemvol. pro Min. reduziert 0°, 760 mm Hg und Trockenluft l	Zuwachs an CO_2 %	O-Defizit %	CO_2-Ausscheidung pro Min. und Tier ccm	CO_2-Ausscheidung pro Min. und 1 kg Tier ccm	O-Verbrauch pro Min. und Tier ccm	O-Verbrauch pro Min. und 1 kg Tier ccm	Respir. Quotient	Cal.-Verbrauch pro Min. u. 1 kg Tier nicht reduziert	Cal.-Verbrauch pro Min. u. 1 kg Tier reduziert auf Nichtwiederkäuen	Bemerkungen
Versuch vom 11. Mai. Hafer 350 g. Lebendgewicht 46 kg.												
9h nüchtern	6,13	5,76	3,97	4,80	228,67	4,915	276,48	5,943	0,83	*28,79	24,87	* Wiederkäuen 3,92 Cal.
10h Fressen	9,50	8.91	3,55	4,39	316,30	6,802	385,80	8,588	0,82	41,53	41,53	
11h	7,45	7,00	3,49	3,90	244,30	5,253	273,00	5,871	0,90	*28,95	27,64	* Versuch 12 Min. Wiederkäuen 4 Min. = 1/3 = 1,31 Cal.
12h 10′	6,87	6,45	3,53	4,21	226,39	4,868	271,54	5,840	0,83	*28,29	27,51	* Wiederkäuen 1/3 = 0,78 Cal.
1h 15′	5,75	5,40	3,47	4.49	187,38	4,030	242,46	5,201	0,77	24,81	24,81	
2h	5,57	5,22	3,40	4,50	177,48	3,816	234.90	5,051	0,75	23,98	23,98	
5h 15′	6,20	5,78	3,37	4,16	228,48	4,910	282,04	6,065	0,81	*29,23	25,31	* Wiederkäuen 3,92 Cal.
Versuch vom 12. Mai. Hafer 400 g. Lebendgewicht 46 kg.												
9h nüchtern	6,20	5,80	3,34	4,22	193,72	4,211	244,76	5,320	0,79	25,51	25,51	
10h Fressen	9,83	9,22	3,67	4,18	338,37	7,354	385,39	8,378	0,87	41,00	41,00	
11h	6,71	6,29	3,76	4,28	236,50	5,141	269,21	5,852	0,87	*28,63	27,32	* Versuch 12 Min. 4 Min. Wiederkäuen = 1/3 = 1,31 Cal.
12h 20′	7,18	6,73	3,24	4,26	218,05	4,739	286,70	6,233	0,76	*29,66	25,74	* Wiederkäuen 3,92 Cal.; unruhig
1h 40′	6,21	5,85	3,51	4,12	204,28	4,441	239,78	5,212	0,85	25,38	25,38	
Versuch vom 9. Mai. 500 g Rotkleeheu lang. Lebendgewicht 46 kg.												
9h nüchtern	6.62	6,20	3,53	4,59	218,86	4,540	284.58	6.186	0,76	*29,43	25,51	* Wiederkäuen 3,92 Cal.
10h Fressen	10,20	9,53	3,32	4,16	316,39	6,878	396,45	8,618	0.79	41,33	41,33	
11h 15′	6,22	5,81	3.67	4,14	213,22	4,635	240,53	5,229	0,88	25.66	25,66	
12h 25′	6,34	5,90	3,97	4,91	234,23	5,092	289.69	6.300	0,81	*30.36	26,44	* do.
1h 20′	6,28	5,85	4,07	5,40	238,09	5.176	315,90	6,867	0.75	*32,59	28,67	* do.
2h 10′	6,86	6,39	3,91	4,97	249,85	5,430	317,58	6,904	0,78	*33,03	29,11	* do.
5h 40′	7,25	6,77	3,29	4,14	222,73	4,842	280,28	6,093	0,79	29,22	25,30	* do.
Versuch vom 16. Mai. 2,5 kg Rotklee grün, jung. Lebendgewicht 47 kg.												
9h nüchtern	5,65	5,34	3,82	4.90	203,99	4,340	268.66	5,567	0,78	26,63	26.63	
10h Fressen	10,44	9,69	3,39	3,85	328,49	6,987	373,06	7,937	0,88	38,94	38.94	
11h	8,44	7,83	4,25	4,06	332,77	7,080	317,90	6,763	1,04	*34,46	30,54	* Wiederkäuen 3,92 Cal.
12h 20′	7,36	6,83	4,03	5,00	275,25	5,856	341,50	7,265	0,80	*34,93	33,62	* Versuch 15 Min. Wiederkäuen 5 Min. = 1/3 = 1,31 Cal.
2h	7,22	6,70	4,04	5,00	270,68	5,759	335,00	7,127	0,80	34,26	34,26	
4h 45′	5,91	5,47	4,08	5.29	223,17	4,748	289,86	6,156	0,77	29,37	29,37	
6h 10′	5,78	5,30	3,90	5,06	206,70	4,400	268,18	5,705	0,77	27,21	27,21	
Versuch vom 6. September. 1,5 kg Luzerne (vor der Blüte). Lebendgewicht 54 kg.												
9h nüchtern	5,28	4,94	3.78	4,96	186,73	3,458	245,02	4.537	0,76	21,59	21.59	
10h Fressen	10,11	9.34	3,20	3,91	298,88	5,534	365,19	6,762	0,81	32,59	32 59	
11h 30′	8,70	8,04	3,37	3,50	270,95	5.017	281,40	5,211	0,96	26,04	26,04	
12h 30′	8,10	7,47	3.51	4,12	262,19	4,855	307,76	5,699	0,85	27,75	27,75	
2h	6,25	5,82	3,90	5,25	226,98	4,203	305,55	5,658	0,74	*26,78	25,47	* 1/3 Wiederkäuen = 1,31 Cal.
4h	7,20	6,66	3,44	4,40	229,10	3,243	293,04	5,426	0,78	*25,95	24,64	* do.
5h 30′	6,82	6,28	3,22	4,07	202,21	3,748	255,59	4,733	0,79	22,70	22,70	

Zeit nach Aufnahme der Nahrung	Atemvol. pro Min. abgelesen an der Gasuhr l	Atemvol. pro Min. reduziert 0°, 760 mm Hg und Trockenluft l	Zuwachs an CO_2 %	O-Defizit %	CO_2-Ausscheidung pro Min. und Tier ccm	CO_2-Ausscheidung pro Min. und 1 kg Tier ccm	O-Verbrauch pro Min. und Tier ccm	O-Verbrauch pro Min. und 1 kg Tier ccm	Respir. Quotient	Cal.-Verbrauch pro Min. u. 1 kg Tier nicht reduziert	Cal.-Verbrauch pro Min. u. 1 kg Tier reduziert auf Nicht-wiederkäuen	Bemerkungen
Versuch vom 16. September. 450 g Luzerneheu (vor der Blüte). Lebendgewicht 55 kg.												
9h nüchtern	7,02	6,51	3,10	3,83	201,81	3,669	249,33	4,533	0,80	21,79	21,79	
10h Fressen	11,80	10,93	2,84	3,40	310,41	5,644	371,62	6,756	0,83	32,73	32,73	
11h	8,20	7,61	3,18	3,38	242,00	4,400	257,22	4,677	0,94	23,20	23,26	
12h	9,00	8,34	3,10	3,41	258,54	4,700	284,34	5,169	0,91	25,56	25,56	
1h 10′	9,02	8,37	3,21	3,66	268,67	4,885	306,34	5,570	0,87	27,26	27,26	
2h	9,82	9,12	3,21	4,17	292,75	5,322	380,30	6,914	0,87	*33,83	29,91	* Wiederkäuen 3,92 Cal.
3h 20′	8,85	8,21	2,87	3,32	235,62	4,284	272,57	4,956	0,86	24,19	24,19	
4h 10′	8,25	7,65	2,79	3,67	213,43	3,880	279,22	5,076	0,73	*23,97	23,00	* Versuch 15 Min. 4Min. Wiederkäuen.
5h 25′	8,13	7,69	2,61	3,55	200,71	3,649	272,99	4,963	0,73	23,43	23,43	1/4 = 0,98 Cal.
Versuch vom 26. September. 500 g Wiesenheu als Häcksel mit Wasser. Lebendgewicht 56 kg.												
9h nüchtern	7,60	7,14	2,25	2,90	160,65	2,868	212,77	3,799	0,75	18,03	18,03	
10h Fressen	10,80	10,14	2,84	3,57	287,97	5,142	362,00	6,464	0,79	31,00	31,00	
11h 35′	8,57	7,97	3,06	3,39	243,88	4,355	270,18	4,824	0,90	*23,79	19,87	* Wiederkäuen 3,92 Cal.
12h 20′	8,90	8,27	3,13	3,45	258,85	4,622	285,31	5,091	0,91	*25,19	21,27	* do.
1h 10′	7,98	7,53	2,93	3,78	220,63	3,939	284,63	5,082	0,77	*24,24	20,32	* do.
2h 20′	7,86	7,40	3,00	4,00	222,00	3,964	296,00	5,285	0,75	*25,08	21,16	* Wiederkäuen
4h	7,94	7,46	2,88	3,82	214,84	3,836	284,97	5,088	0,75	*24,15	20,23	* do.
5h	7,61	7,46	2,68	3,84	199,93	3,570	286,46	5,115	0,70	*23,96	20,04	* do.
6h	8,31	7,81	2,30	3,11	179,63	3,207	242,89	4,337	0,74	20,53	20,53	

In den angeführten Tabellen verdienen noch die Versuche mit Grünfutter besondere Beachtung. Sowohl bei Rotklee als auch bei Luzerne findet eine bedeutende Steigerung des Stoffwechsels statt, die dabei längere Zeit anhält. Parallelversuche mit derselben, nur in getrocknetem Zustande als Heu verfütterten Luzerne liefern genau dasselbe Bild des Gaswechsels wie Versuche mit grüner Luzerne. Zwischen Grünfutter und Heu scheint also in bezug auf die Intensität des Verdauungsprozesses kein Unterschied zu bestehen.

Über das Vorkommen einiger organischer Basen im Fleisch des Wildkaninchens.

Von

Kiyohisa Yoshimura.

(Aus dem Universitätslaboratorium für Nahrungsmittelchemie Halle a. S.)

(Eingegangen am 6. November 1911.)

Über die chemische Zusammensetzung des Fleisches verschiedener Tiere mit besonderer Rücksicht auf die Fleischbasen liegen schon mehrere Arbeiten vor.

Aber so weit mir bekannt, ist das Fleisch des Wildkaninchens noch nicht Gegenstand einer besonderen Untersuchung gewesen.

Bei meinen eingehenden Untersuchungen konnte ich in diesem Fleisch nur Kreatin, Hypoxanthin, Xanthin und Carnosin isolieren.

Die Zusammensetzung des Fleisches, das für die Untersuchung benützt wurde, war folgende:

Wasser	73,58%
Trockensubstanz	26,42%

In 100 Teilen Trockensubstanz:

Gesamt-Stickstoff . . .	13,688
Bindegewebe-Stickstoff .	0,652
Bindegewebe (N × 5,55) .	3,619
Fett	7,867
Muskelfaser	52,833
Extraktivstoff	26,379
Asche	5,293
Gesamt-Phosphorsäure .	2,102

In 100 Teilen Extraktivstoff:

Gesamt-Stickstoff	4,006
Eiweiß-Stickstoff	2,088
Nichteiweiß-Stickstoff	1,918
Davon { durch Phosphorwolframsäure fällbarer Stickstoff	0,768
Davon { Stickstoff in anderer Form	1,150

Der im Wasser lösliche Stickstoff als 100 gesetzt:

Eiweiß-Stickstoff	52,13
Nichteiweiß-Stickstoff	47,87
Davon { durch Phosphorwolframsäure fällbarer Stickstoff	19,21
Davon { Stickstoff in anderer Form	28,66

Experimenteller Teil.

3 kg gehacktes frisches Fleisch wurden mit warmem Wasser (ca. 80 bis 90° C) 3mal extrahiert; aus den vereinigten Auszügen wurden alsdann mit Bleiessig und Tannin Eiweißstoffe, organische Säuren und andere Verunreinigungen entfernt.

Das Filtrat wurde durch Schwefelwasserstoff entbleit und das klare Filtrat vom Bleisulfid erst auf dem Wasserbade verdampft und dann im Vakuum sehr weit eingeengt. Die konzentrierte Flüssigkeit wurde im Vakuumexsiccator stehen gelassen, wobei sich glänzende Prismen ausschieden, die aus Kreatin bestanden. Die Ausbeute betrug 6 g.

0,1962 g exsiccatortrockene Substanz verloren bei 100° C 0,02370 g an Gewicht.

Demnach:	Gefunden	Berechnet für Kreatin ($C_4H_9N_3O_2 + H_2O$)
Wasser	12,08%	12,08%

0,2000 g exsiccatortrockene Substanz ergaben 0,05676 g Stickstoff.

Demnach:	Gefunden	Berechnet für Kreatin ($C_4H_9N_3O_2 + H_2O$)
Stickstoff	28,38%	28,19%

Die Mutterlauge vom Kreatin wurde noch weiter im Vakuum eingeengt und einige Tage im Vakuumexsiccator stehen gelassen, aber es schieden sich keine Krystalle mehr aus; deshalb wurde diese mit 5%iger Schwefelsäure auf 1,5 l verdünnt und mit Phosphorwolframsäure gefällt, und der Niederschlag in bekannter Weise mittels Barythydrat zersetzt. Die dabei er-

haltene, vom Ammoniak befreite Basenlösung wurde mit Salpetersäure neutralisiert und dann mit einer Silbernitratlösung versetzt, wobei ein brauner Niederschlag entstand.

I. Die durch Silbernitrat fällbaren Basen (Alloxurbasen).

Der Silbernitrat-Niederschlag, der mit silbernitrathaltigem Wasser vorsichtig gewaschen wurde, wurde in folgender Weise[1]) behandelt, um Alloxurbasen zu isolieren.

Man brachte den Niederschlag in stark ammoniakhaltiges Wasser und digerierte ihn 24 Stunden lang, um die Silbernitratverbindungen der Alloxurbasen in die Silberverbindungen überzuführen; sie wurden abgesaugt und so lange mit ammoniakhaltigem Wasser gewaschen, bis sie salpetersäurefrei waren.

Der Filterrückstand wurde nunmehr mit warmer verdünnter Salzsäure zerlegt und heiß filtriert, das Filtrat auf dem Wasserbade vorsichtig zur Trockne gebracht und der Rückstand nun mit kochendem Wasser gelöst und in der Wärme mit 10%igem Ammoniak in Überschuß versetzt, wobei kein Niederschlag entstand (Guanin war somit nicht vorhanden).

Die ammoniakalische Flüssigkeit wurde zur Trockne gebracht, nach Entfernung des Ammoniaks mit schwach salzsäurehaltigem Wasser aufgenommen und mit einer gesättigten Lösung von Natriumpikrat versetzt, wobei keine Fällung erzeugt wurde (Adenin wahrscheinlich nicht vorhanden). Die pikrinsäurehaltige Flüssigkeit wurde mit Ammoniak alkalisch gemacht und durch ammoniakalische Silberlösung ausgefällt. Der Silberniederschlag, mit ammoniakalischem Wasser gut salpetersäurefrei gewaschen, wurde mit Salzsäure zersetzt, das Filtrat vom Chlorsilber vorsichtig zur Trockne gebracht und die überschüssige Salzsäure durch mehrmaliges Abdampfen mit Wasser entfernt. Nun wurde der Rückstand mit Wasser bei 40° C 24 Stunden lang digeriert, wobei nur sehr wenig unlöslich bleibt; der unlösliche Teil gab deutlich die Weidelsche und Streckersche Reaktionen auf Xanthin. Der lösliche Teil vom Xanthin wurde erst eingeengt und dann mit einer konzentrierten Natriumpikratlösung versetzt, wobei Hypoxanthinpikrat in

[1]) M. Krüger und G. Salmon, Zeitschr. f. physiol. Chem. 26, 373, 1898.

gelben Platten entstand, die sich bei 250 bis 254° C (unkorr.) zersetzten. Die Ausbeute betrug nur 0,3 g.

Um das Platinat darzustellen, wurde das Pikrat mit Salzsäure zersetzt und das gewonnene salzsaure Salz mit einer Platinchloridlösung versetzt, wobei gelbe tafelförmige Krystalle entstanden.

0,1532 g Substanz ergaben 0,04390 g Platin.

Demnach:	Gefunden	Berechnet für $[(C_5H_4N_4O.HCl)_2.PtCl_4]$
Platin	28,65%	28,58%

II. Die durch Silbernitrat und Barythydrat nicht fällbaren Basen (Carnosin).

Das Filtrat vom Silbernitrat-Niederschlag wurde mit Silbernitrat und Barythydrat im Überschuß versetzt. Der dabei entstandene Niederschlag wurde in gewöhnlicher Weise behandelt, um einige Base zu isolieren, aber es gelang nicht.

Die Mutterlauge vom Silbernitrat- und Barythydrat-Niederschlag wurde nach dem Entfernen des Silbers durch Salzsäure und des Baryts durch Schwefelsäure, mit Schwefelsäure stark angesäuert, mit Phosphorwolframsäure versetzt und dieser Niederschlag durch Barythydrat zersetzt.

Die dabei gewonnene Basenlösung wurde im Vakuum stark eingeengt und im Vakuumexsiccator stehen gelassen, wobei sich Prismen allmählich ausschieden, deren Gesamtbetrag sich auf 6,7 g belief.

Diese Krystalle waren im Alkohol ziemlich schwer, im Wasser aber leicht löslich, die wässerige Lösung reagierte stark alkalisch und gab die Paulysche Reaktion. Im Capillarrohre erhitzt, schmolz die Substanz bei 240 bis 243° C (unkorr.).

1. 0,1508 g Substanz ergaben 0,03720 g Stickstoff.
2. 0,2120 g „ „ 0,05239 g „

Demnach:	Gefunden	Berechnet für Carnosin $(C_9H_{14}N_4O_3)$
Stickstoff	1. 24,67%	24,78%
	2. 24,71 „	

Nitrat: Wurde ein Teil der Base in wenig Wasser gelöst, mit Salpetersäure neutralisiert, weiter eingeengt und im Vakuumexsiccator stehen gelassen, so schied sich das Nitrat

als feine Prismen aus, die im Alkohol etwas schwer, aber im Wasser leicht löslich waren. Im Capillarrohre erhitzt, schmolz es bei 215 bis 220° C (unkorr.).

0,1846 g Substanz ergaben 0,03934 g HNO_3 (nach der Nitron-Methode).

Demnach:	Gefunden	Berechnet für ($C_9H_{14}N_4O_3 . HNO_3$)
HNO_3	21,31%	21,80%

Das Drehungsvermögen des Nitrats:

0,324 g Nitrat wurden in 20 ccm Wasser gelöst,

$[\alpha] = +0{,}36°$ (in 1 dcm-Rohr)

$[\alpha]_D^{20} = +22{,}2°$.

Platinat: Zur wässerigen Lösung der Base wurde Salzsäure und Platinchloridlösung zugesetzt und nach Zusatz von Alkohol im Exsiccator stehen gelassen, wobei sich prismatische Krystalle ausschieden, die beim Umkrystallisieren aus wässeriger Lösung tafelförmige Krystalle lieferten. Sie waren im Wasser leicht, aber im Alkohol schwer löslich; im Capillarrohre erhitzt, zersetzten sie sich bei 221 bis 224° C (unkorr.).

0,4416 g Substanz ergaben 0,12550 g Platin.
0,3396 g „ „ 0,02947 g Stickstoff.

Demnach:	Gefunden	Berechnet für ($C_9H_{14}N_4O_3 . 2\,HCl . PtCl_4$)
Platin	30,27%	30,63%
Stickstoff	8,68%	8,81%

Schließlich wurde die Mutterlauge vom Carnosin, die vielleicht noch unbekannte Basen enthalten konnte, in verschiedener Weise untersucht, um solche zu isolieren, aber erfolglos.

Zusammenfassung der Resultate.

Aus 1 kg frischem Fleisch des Wildkaninchens wurden gewonnen:

Kreatin	2,00 g
Hypoxanthin . . .	0,04 g
Xanthin	vorhanden
Carnosin	2,23 g.

Ein neues Viscosimeter und seine Anwendung auf Blut und Blutserum.

Von

George F. White.

(Aus dem Woods-Hole-Laboratorium der Fischerei-Abteilung der Vereinigten Staaten.)

(Eingegangen am 4. September 1911.)

Mit 3 Figuren im Text.

Durchaus genau und schnell ausführbare Methoden zur Messung der Viscosität tierischer und pflanzlicher Flüssigkeiten sind seit der Entdeckung der Beziehungen der physiologischen und chemischen Eigenschaften zur Viscosität oft vorgeschlagen worden. Der Gebrauch eines Torsionsviscosimeters, bei dem die Schwingungsdauer einer Metallscheibe abgelesen wird, ermöglicht, wenn nötig, rapide Handhabung, wie es bei solch leicht gerinnbaren Flüssigkeiten wie z. B. Blut der Fall ist. In einer kürzlich erschienenen Arbeit hat v. Liebermann[1]) einen derartigen Apparat beschrieben, ohne jedoch nähere Angaben über seine Genauigkeit zu machen. Die Zeitdauer, die eine Flüssigkeit von bekanntem Volumen zum Durchfließen einer Capillare unter dem Druck ihres eigenen Gewichts braucht, hat auch dazu gedient, die Viscosität zu messen — ein Prinzip, nach dem das Ostwaldsche Viscosimeter gebaut ist und das präziseste dieser Art Instrumente repräsentiert. Die Nachteile dieser letzteren Methode sind oft hervorgehoben worden[2]); der Hauptfehler besteht darin, daß die Flüssigkeit während des Fließens kinetische Energie gewinnt. Bei beiden Methoden werden auf diese Weise nur relative Werte der Viscosität erzielt, absolute müssen wir also mit Hilfe einer Methode, die auf einem anderen Prinzip beruht, zu erlangen suchen.

[1]) Diese Zeitschr. 33, 218, 1911.

[2]) Schmidt, Dissertation, Baltimore, Md., 1909.

Thorp und Roger[1]) haben zuerst ein Instrument erdacht, das die Viscosität zu messen gestattete, indem die Ausflußzeit der Flüssigkeit unter einem bekannten, der Natur der Flüssigkeit angepaßten Druck durch ein Capillarrohr, dessen Radius und Länge bekannt waren, berechnet wurde. Mit Hilfe der Poisseuilleschen Formel,

$$\eta = \frac{\pi r^4 p t}{8 v l} - \frac{v d}{8 \pi t l}$$

die die obenerwähnte kinetische Energie berücksichtigt, wurden vorzügliche Resultate erzielt. Bingham und White[2]) haben unlängst dieses Instrument insofern modifiziert, als die beiden vertikalen Arme mit dem horizontalen Capillarrohr durch geschliffene Scharniere verbunden sind, was auf diese Weise das Reinigen des ganzen Apparates erleichtert. Gleichzeitig wird ein Fehler bei dem Messen des Radius und der Länge des Capillarrohres vermieden, wie er beim Anschmelzen desselben an die beiden Arme entstehen könnte. Die Verbindung der einzelnen Teile dieses Viscosimeters muß mit großer Vorsicht hergestellt werden, und es gehört ein beträchtliches Maß technischer Geschicklichkeit dazu, den Apparat zu handhaben, ohne ihn zu beschädigen.

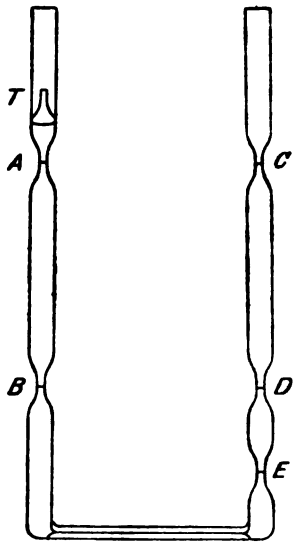


Fig. 1.

Das im folgenden beschriebene Viscosimeter gestattet, genaue Angaben über die Viscosität von Flüssigkeiten zu erhalten und umgeht die langwierige und äußerst umständliche Handhabung des Thorp und Rogerschen Instrumentes. In diesem neuen, aus Glas hergestellten Viscosimeter (Fig. 1) sind zwei Arme direkt an die Enden eines Capillarrohres von ungefähr 0,1 mm Durchmesser und annähernd 7,2 cm Länge angeschmolzen. Das

[1]) Phil. Trans. 185, 307, 1894.

[2]) Eine Beschreibung dieses Viscosimeters wird in kurzem veröffentlicht werden.

Gesamtvolumen der Flüssigkeit — das konstant bleiben muß — ist dasjenige zwischen der untersten Bezeichnung *E* auf dem rechten Arm und dem oberen Ende der inneren Röhre *T* links. Das Ventil ermöglicht es, dieses Volumen bei allen Temperaturen dadurch konstant zu erhalten, daß die Flüssigkeit in das Ventil hineinfließt, bis der Punkt *E* erreicht ist. Ein Ventil für jeden Arm ist unnötig und würde extra Zeit und Arbeit, die Größe der Arme so zu gestalten, daß sie in bezug auf dies Volumen symmetrisch sind, erfordern. Der Druck wird durch Luft bewirkt, die über Schwefelsäure getrocknet und durch Wasser in einem mit einer Niveaukugel (Wasserwage) verbundenen Behälter komprimiert wird. Ein 2 m hohes Wassermanometer mit einer Skala, die das Ablesen bis auf Millimeter ermöglicht, steht auch mit dem Behälter in Verbindung. Die Anlage des ganzen Apparates zeigt Fig. 2.

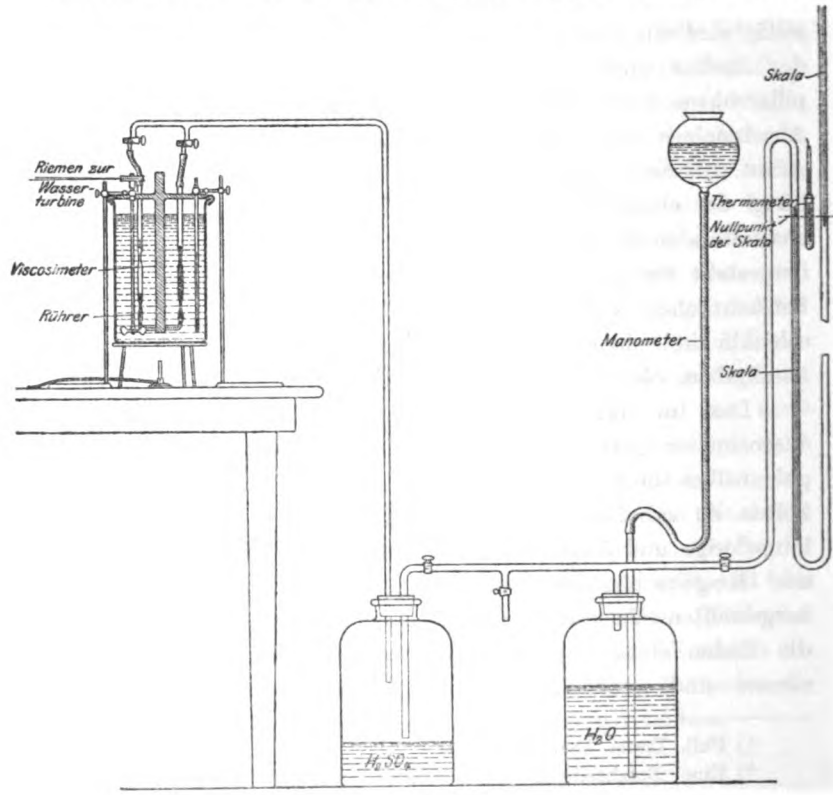


Fig. 2.

Bei Anwendung der Formel

$$\eta = \frac{\pi r^4 p t}{8 v l} - \frac{v d}{8 \pi t l}$$

müssen 2 Konstante $\frac{\pi r^4}{8 v l}$ und $\frac{v}{8 \pi l}$ erhalten werden. Infolge von Ungenauigkeiten der Manometerskala und der ungleich balancierten Arme des Viscosimeters ist eine Korrektur des Druckes erforderlich. Um das Instrument zu kalibrieren, wird eine Flüssigkeit von bekannter Viscosität benutzt und die obigen Konstanten dann berechnet. Zu diesem Zwecke dient Wasser, das erst über Chromsäure und dann über Bariumhydroxyd durch einen Quarzkondensator, mit den gehörigen Vorsichtsmaßregeln gegen das Eindringen von Staub, destilliert worden ist. Für seine Viscosität bei 25° wird der Thorp und Rogersche Wert 0,00891 eingesetzt. Die Länge der Capillaren ist natürlich nur annähernd bekannt, aber wegen des ganz geringen, durch kinetische Energie bedingten Fehlers kann diese Ungenauigkeit gänzlich unberücksichtigt bleiben.

Die Korrektur für den Druck wird bestimmt, indem man bei Druck p_1 und p_2 abliest, wenn die Ausflußzeiten t_1 und t_2 heißen. Bezeichnet man den Korrekturwert mit x, so ermöglicht uns die folgende Gleichung, ihn zu berechnen:

$$x = \frac{p_2 t_2 - p_1 t_1}{t_1 - t_2}.$$

Die Korrektur für den Druck im linken Arm betrug 2,56 cm, im rechten 1,70 cm.

Die Volumina AB und CD wurden festgestellt, indem man reines Wasser wog, bevor die Arme an die Capillare angeschmolzen wurden. Das Volumen des linken Armes betrug 3,7974, das des rechten 3,5822. 4 Bestimmungen des Verhältnisses $\frac{r^4}{l}$ ergaben:

0,000004901
0,000004897
0,000004896
0,000004895

Die Viscosität des Wassers bei 40 und 50° wurde mit Benutzung der Konstanten bei Kalibrierung bei 25° gemessen,

und die hier folgenden Resultate stimmen mit denen von Thorp und Roger überein.

Tabelle I.

Temp.	Rechter Arm	Linker Arm	Durchschnitt	Thorp und Roger:
40°	0,006515	0,006500	0,006508	0,00653
50°	0,005468	0,005475	0,005472	0,005475

Das Viscosimeter gibt also bis auf 0,2% genaue Resultate, wobei zur Untersuchung weniger als 5 ccm Flüssigkeit nötig sind. Das Instrument wird sehr schnell gereinigt, indem man mit Hilfe einer Saugpumpe erst das eigentliche Reagens, dann Alkohol und Äther durchfließen läßt. Gewöhnliche Vorsichtsmaßregeln werden die Dauerhaftigkeit des Viscosimeters auf unbestimmte Zeit hin sichern.

Die Viscosität des Hundshaiblutes bei 0°.

Um die Verwendbarkeit des Viscosimeters zur Messung von leicht gerinnbaren Flüssigkeiten zu prüfen, wurde ein Versuch mit dem Blute des Hundshais (Mustelus canis) gemacht. Eine Blutprobe wurde der Schwanzarterie entnommen, in einen mit Eis umgebenen Kolben geleitet und dann in das Viscosimeter gegossen, das in einem fortwährend gut gekühlten Eis- und Wasserbad stand. Bis zu 1 Stunde trat keine Gerinnung ein, doch wurden die Messungen so schnell wie möglich vorgenommen, um den bei der Spaltung der Formelemente des Blutes sich ergebenden Fehler zu vermeiden. Das spezifische Gewicht des Blutes wurde in einem Pyknometer bestimmt.

Tabelle II.

Blutviscosität bei 0°.

Nr. der Probe	Rechter Arm	Linker Arm	Durchschnitt
1	0,0708	0,0705	0,0707
2	0,0691	0,0692	0,0692
3	0,0681	0,0682	0,0682
			0,0693

Die Blutproben wurden an verschiedenen Tagen gesammelt und zeigen keine größere Differenz in der Viscosität (3% im höchsten Fall), als man von dem wechselnden Salzgehalt und

anderen variablen Faktoren, die die Blutzusammensetzung des Elasmobranchien[1]) beeinflussen, erwarten darf.

Der Durchschnitt der 3 Bestimmungen, 0,0693, ist 3,896 mal so groß wie die Viscosität des Wassers bei 0°, = 0,01778; aber dieses Verhältnis braucht nicht unbedingt auch bei Körpertemperatur zu bestehen, da die Temperaturkoeffizienten der Viscosität für Wasser und Blut wahrscheinlich verschiedene sind.

Die Viscosität und Ausflußgeschwindigkeit des Hundshaiblutserums.

Arterielles Blut des Hundshais wurde zentrifugiert und, da es sich so langsam absetzt, über Nacht stehen gelassen; dann konnte ein klares, gelbes Serum aus dem geronnenen Fibrinogen abgegossen werden. In Tabelle III sind die Resultate der Viscositätsbestimmungen von 2 Serumproben zwischen 30° und 60° zusammengestellt.

Tabelle III.

Temp.	Viscosität			Ausfluß-geschwindigkeit
	Rechter Arm	Linker Arm	Durchschnitt	
		Serum I.		
30°	0,01252	0,01252	0,01252	79,87
40°	0,01016	0,01020	0,01018	98,23
50°	0,00861	0,00860	0,00861	116,3
60°	0,01055	0,01058	0,01057	94,61
		Serum II.		
30°	0,01288	0,01290	0,01288	77,58
40°	0,01046	0,01042	0,01044	95,79
50°	0,00884	0,00881	0,00883	113,3
55°	0,00860	0,00860	0,00860	116,3
57,5°	0,00862	0,00863	0,00863	115,9

Die Resultate sind in Fig. 3 graphisch dargestellt, die Ausflußgeschwindigkeiten sind als Ordinaten und die Temperaturen als Abszissen gezeichnet.

Bingham und Harrison[2]) haben nachgewiesen, daß die Ausflußgeschwindigkeiten der nicht assoziierten Flüssigkeiten eine lineare Funktion der Temperatur sind mit Anwendung der

[1]) Siehe Scott und White: „Vorläufige Mitteilung über die Durchlässigkeit der Kiemenmembranen der Fische für Salze." Science 32, 768, 1910. — Weitere Untersuchungen auf diesem Gebiete sind im Gange.

[2]) Zeitschr. f. physikal. Chem. 66, 31, 1909.

Viscositätsangaben von Thorp und Roger. Wasser ist selbstverständlich assoziiert, aber aus der Zeichnung ist ersichtlich, daß die Kurven der Sera in dem kurzen Temperaturintervall von 20°, d. h. unter 50°, fast geraden Linien gleichkommen. Die Viscositätskurven würden als Hyperbeln zu zeichnen sein.

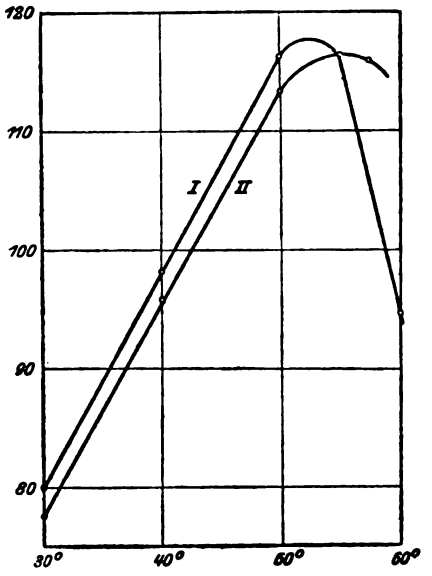


Fig. 3.

Die plötzliche Abnahme in der Ausflußgeschwindigkeit bei ungefähr 53° wurde außer auf der zugehörigen Kurve auch an der durch Gerinnung bedingten Opalescenz der Flüssigkeit in dem Viscosimeter deutlich wahrgenommen. Daß diese Gerinnung keine Folge der Trennung von irgendwelchen Serumalbuminen und Serumglobulinen außer von Fibrinogen ist, geht aus dem folgenden hervor. Bekanntlich ist Fibrinogen in 5 bis 10%igen NaCl-Lösungen, die zwischen 52 und 55° gerinnen, ganz löslich. Bei der Analyse von Hundshaiblutserum ergaben sich 0,9234 g Cl auf 100 g Serum, entsprechend einer 1,52%igen NaCl-Lösung. Eine Lösung von so hohem Prozentsatz würde sicherlich etwas Fibrinogen gelöst enthalten, das sich nicht bei Zimmertemperatur mit den gewöhnlichen Methoden der Serumgewinnung fällen ließe.

Die Fibrinbildung jenseits von 52° geht langsam vor sich, da die Ausflußgeschwindigkeiten bei konstanter Temperatur

gänzlich von der Zeitdauer abhängen. So nahm die Viscosität von Serum II regelmäßig bei 60° zu, schwankte im Laufe von einigen Stunden von 0,00878 auf 0,00978. Die Möglichkeit, die Gerinnungsdauer des Fibrinogens zu bestimmen, ist auf diese Weise angedeutet. Die genaue Gerinnungstemperatur irgendeiner Proteinlösung kann bequem durch die obige Methode, wenn die Temperatur sehr langsam gesteigert wird, festgestellt werden. Die Trennung des Kolloids würde durch einen „Knick" in der Viscositäts- und Fluiditätskurve gekennzeichnet werden.

Die Untersuchungen über die Viscosität der Blutsera und des Fischblutes werden in diesem Laboratorium weiter fortgeführt werden.

Zusammenfassung.

1. Es ist ein Viscosimeter zur genauen Bestimmung der Viscosität von reinen Lösungen und Flüssigkeitsgemischen konstruiert worden. Die Vorzüge dieses Instrumentes vor anderen dieser Art bestehen darin, daß es leicht hergestellt, schnell kalibriert, mühelos gereinigt werden kann, ohne daß man besonders vorsichtig damit umzugehen braucht.

2. Die Viscosität des Blutes kann unter geeigneten Vorsichtsmaßregeln in dem obenerwähnten Viscosimeter gemessen werden. Bei Hundshaiblut fanden wir bei 0° eine 3,896mal so große Viscosität wie die des Wassers bei derselben Temperatur.

3. Die Ausflußgeschwindigkeit des Hundshaiblutserums ist eine lineare Funktion der Temperatur zwischen 30 und 52°. Bei 52° stellt sich ein Sinken in der Fluiditätskurve ein, die durch das von den Blutsalzen in Lösung gehaltene Fibrinogen hervorgerufen wird.

4. Die „Knicke" in den Viscositäts- und Fluiditätskurven sind ein genaues Bestimmungsmittel für die Temperatur, bei der Kolloide gefällt werden. Die Gerinnungsgeschwindigkeit kann auch bei jeder Temperatur durch Viscositätsbestimmungen gemessen werden.

Biochemische Umwandlung von α-Pyrrolidincarbonsäure in n-Valeriansäure und δ-Aminovaleriansäure.

Von

Carl Neuberg.

(Aus der chemischen Abteilung des Tierphysiologischen Instituts der Kgl. Landwirtschaftlichen Hochschule, Berlin.)

Im Jahre 1906 habe ich die seit etwa 20 Jahren ruhende Forschung über die Fäulnis von Eiweißkörpern aufgenommen[1]) und mit einer Reihe von Mitarbeitern in der folgenden Zeit über neue Ergebnisse berichten können. Uns interessierten namentlich die Umwandlungen der Monoaminosäuren durch Fäulniserreger, da die Veränderungen der Diaminosäuren durch Ellinger klargelegt waren.

Zu den klassischen Ergebnissen von E. und H. Salkowski, Nencki, Baumann und Brieger konnten wir folgende neue Tatsachen gesellen:

1. Den flüchtigen Fettsäuren, die bei der Eiweißfäulnis auftreten, kommt, entgegen den bis dahin geltenden Anschauungen, vielfach keine normale, sondern eine verzweigte Kohlenstoffkette zu[2]).

2. Ein Teil der durch Fäulnis von Proteinstoffen entstehenden aliphatischen Fettsäuren zeigt optische Aktivität; insbesondere konnten wir die Bildung von rechtsdrehender Valeriansäure und dextrogyrer Capronsäure nachweisen[2]) [3]). Die wichtige Tatsache, daß Eiweißkörper in

---

[1]) C. Neuberg, Über die Entstehung optisch-aktiver Fettsäuren in der Natur. Diese Zeitschr. 1, 368, 1906.

[2]) C. Neuberg, diese Zeitschr. 1, 373, 1906; Sitzungsber. d. Kgl. Preuß. Akad. d. Wissensch. 1907, Sitzung vom 16. Mai.

[3]) C. Neuberg und E. Rosenberg, Über die bei der Eiweißfäulnis auftretenden Fettsäuren sowie über die optisch-aktive Valeriansäure und Capronsäure. Diese Zeitschr. 7, 178, 1907.

optisch-aktive Fettsäuren übergehen können, war bis dahin vollkommen übersehen worden.

3. Unsere Beobachtung, daß ein bedeutender Teil der flüchtigen Fettsäuren (bei gefaultem Casein mehr als $^1/_3$ derselben) aus n-Buttersäure bestand, führte zu Forschungen nach der Quelle dieser Substanz. Wir fanden sie in der Glutaminsäure[1] [2] [3]) und wiesen dabei einen neuen Weg des Abbaues der Monoaminodicarbonsäuren durch Bakterien nach. Dieser besteht in dem gemeinsamen Eintritt von Desaminierung und Kohlensäureabspaltung, zweier sonst meist getrennt verlaufender Prozesse. So wird Glutaminsäure zu n-Buttersäure:

$$COOH—CH_2—CH_2—CH.NH_2—COOH \longrightarrow$$
$$. COOH—CH_2—CH_2—CH_3$$

und Asparaginsäure[4]) zu Propionsäure:

$$COOH—CH_2—CH.NH_2—COOH \longrightarrow COOH—CH_2—CH_3.$$

4. Die letztgenannten Vorgänge wurden in Fäulnisversuchen mit einzelnen Aminosäuren studiert. Dabei ergab sich, daß der Abbau der Glutaminsäure nicht über die Glutarsäure führt[5]). Die Fäulnis bewirkt also nicht, wie man nach Analogie mit dem Schicksal der Aminomonocarbonsäuren zunächst hätte annehmen können, eine reduktive Desaminierung und erst nachträgliche Decarboxylierung, sondern Kohlenstoffkettenverkürzung und Ammoniakabspaltung verlaufen — allem Anscheine nach — neben einander. Als Nebenreaktion tritt ein oxydativer Abbau[5]) zu Bernsteinsäure bei der Fäulnis von Glutaminsäure ein:

$$COOH—CH_2—CH_2—CHNH_2.COOH \longrightarrow$$
$$COOH—CH_2—CH_2—COOH.$$

Bei diesen Vorgängen wird das eine Kohlenstoffatom in Form von CO_2, zum Teil aber auch als Ameisensäure losgelöst.

[1]) Siehe Fußnote 2 S. 490.

[2]) Siehe Fußnote 3 S. 490.

[3]) W. Brasch und C. Neuberg, Biochemische Umwandlung der Glutaminsäure in n-Buttersäure. Diese Zeitschr. 13, 299, 1908.

[4]) C. Neuberg und E. Rosenberg, diese Zeitschr. 7, 183, 1907; C. Neuberg und C. Cappezzuoli, Biochemische Umwandlung von Asparagin und Asparaginsäure in Propionsäure und Bernsteinsäure. Diese Zeitschr. 18, 424, 1909.

[5]) W. Brasch und C. Neuberg, diese Zeitschr. 13, 304, 1908.

Im Falle der Asparaginsäure und noch mehr bei ihrem Amid, dem Asparagin, erfolgt neben dem Abbau zu Propionsäure in deutlicher Weise die einfache Desaminierung zu Bernsteinsäure[1]).

5. Die Versuche mit den isolierten Aminosäuren wurden auch auf deren Racemformen ausgedehnt. Die Produkte der Fäulnis sind bei d,l-Glutaminsäure[2]) und d,l-Asparaginsäure[3]) die gleichen wie bei den natürlich vorkommenden drehenden Formen. Bei der Fäulnis ließ sich keine asymmetrische Spaltung von racemischer Asparaginsäure und Glutaminsäure nachweisen.

6. Die Fäulnis von d,l-Valin[4]) lieferte Valeriansäure und daneben Butylamin; der Angriff der Fäulniserreger erfolgt dabei partiell asymmetrisch. Hier waren zuerst aus einer isoliert der Fäulnis ausgesetzten Monoaminofettsäure das entsprechende aliphatische Monoamin neben der zugehörigen Säure erhalten worden.

Im Verlaufe dieser mannigfachen Untersuchungen haben wir betont, wie wichtig das Studium des Fäulnisverlaufes an einzelnen Aminosäuren ist, und haben uns ausdrücklich die Prüfung bestimmter Fragen vorbehalten[5]), namentlich das Studium der Prolinfäulnis im Hinblick auf die mögliche Entstehung von n-Valeriansäure und δ-Aminovaleriansäure. Wir schrieben[5]):

„Neben der Isopropylessigsäure findet sich (sc. bei der Eiweißfäulnis) vielleicht auch die n-Valeriansäure, die sowohl aus dem Arginin ... als auch aus der Pyrrolidincarbonsäure bzw. dem Oxyprolin ... hervorgehen könnte. Als Zwischenprodukt tritt hier vielleicht die δ-Aminovaleriansäure von E. und H. Salkowski auf. Als Muttersubstanz dieser Aminosäure gilt heute das Arginin; mit ebensoviel Recht könnte sie vorläufig aus den Prolin-

[1]) Siehe Fußnote 4 S. 491.

[2]) C. Neuberg, Verhalten von racemischer Glutaminsäure bei der Fäulnis. Diese Zeitschr. 18, 431, 1909.

[3]) C. Neuberg, Verhalten von racemischer Asparaginsäure bei der Fäulnis. Archivio di fisiologia (Fano-Festband) 7, 87, 1909.

[4]) C. Neuberg und L. Karczag, Verhalten von d,l-Valin bei der Fäulnis. Diese Zeitschr. 18, 435, 1909.

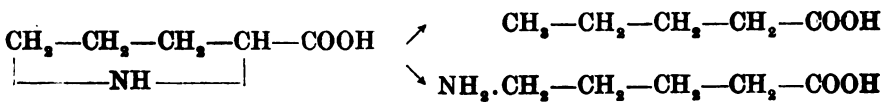
[5]) C. Neuberg und E. Rosenberg, Über die bei der Eiweißfäulnis auftretenden Fettsäuren. Diese Zeitschr. 7, 180 u. 181.

körpern hergeleitet werden. Die Entscheidung dürfte wahrscheinlich durch Fäulnisversuche mit den isolierten Aminoprodukten herbeigeführt werden. Die Anstellung solcher Versuche möchten wir uns vorbehalten usw."

Die weiteren Ergebnisse unserer Untersuchungen auf diesem Gebiete[1]) sollten später im Zusammenhange und in Rücksicht auf ihre Beziehung zur Frage der Petroleumbildung[2]) mitgeteilt werden. Allein die Erwartung, die von uns angeschnittenen Fragen in Ruhe weiter bearbeiten zu können, hat sich nicht erfüllt. Aus dem letzten Heft des Chem. Centralbl. ersehen wir, daß D. Ackermann[3]), von den üblichen Gepflogenheiten abweichend, die Fäulnis des Prolins in der von uns früher skizzierten Richtung studiert hat, obgleich ihm, wie die Originalarbeit lehrt, unser Vorbehalt nicht unbekannt geblieben ist.

Da unsere Methodik jedoch eine andere war und die Resultate überdies zum Teil weitergehend sind, teilen wir im folgenden und in den nachstehenden Arbeiten einige weitere Ergebnisse auf diesem Gebiete mit und beginnen mit der Prolinfäulnis.

Wie früher von Neuberg und Rosenberg (s. o.) zuerst ausgeführt ist, liegt die Möglichkeit vor, daß die α-Pyrrolidincarbonsäure durch Bakterien in folgender Weise aufgespalten wird:



d. h. daß n-Valeriansäure und δ-Aminovaleriansäure entstehen. Beide Produkte werden tatsächlich gebildet.

---

[1]) Inzwischen haben J. Effront (Compt. rend. 148, 239, 1909) und L. Borchardt (Zeitschr. f. physiol. Chem. 59, 96, 1909) die von uns aufgefundene Art des bakteriellen Abbaues von Aminodicarbonsäuren bestätigt.

[2]) C. Neuberg, Zeitschr. f. angew. Chem. 1905, 1045; Sitzungsber. der Kgl. Preuß. Akad. d. Wissensch. 1907; Chem.-Ztg. 1907, Nr. 77; Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 40, 4477, 1907; diese Zeitschr. 7, 199, 1907.

[3]) D. Ackermann, Chem. Centralbl. 1911, II, 1362; Zeitschr. f. Biol. 57, 104, 1911.

Die Versuchsanordnung war die von uns wiederholt bei der Fäulnis einzelner Aminosäuren befolgte; zur Verwendung kam lediglich racemisches Prolin, das hauptsächlich nach der außerordentlich handlichen Methode von E. Fischer und R. Boehner[1]) gewonnen worden war.

23,0 g vakuumtrockenes d,l-Prolin wurden in 2300 ccm Wasser unter Zusatz von so viel Na_2CO_3 gelöst, daß deutlich alkalische Reaktion bestand. Nach Zugabe je eines Tropfens gesättigter Lösungen von Magnesiumsulfat, Chlorkalium und Mononatriumphosphat wurde mit einigen Kubikzentimetern der nach E. Salkowskis Angaben aus Rindfleisch bereiteten Faulflüssigkeit geimpft.

Beim Stehen im Brutschranke stellte sich nach 5 Tagen saure Reaktion auf Lackmus ein; deshalb wurde abermals Sodalösung vorsichtig hinzugefügt. Nach 3 Tagen trat amphotere Reaktion auf, die wiederum durch Na_2CO_3 beseitigt wurde. Nach 22 Tagen, wo noch schwach alkalische Reaktion herrschte, wurde der Versuch unterbrochen. Eine kleine Probe gab nach dem Ansäuern mit Schwefelsäure beim Aufkochen nach flüchtigen Fettsäuren riechende Dämpfe.

I. Das filtrierte Gemisch wurde alsdann mit Schwefelsäure bis zur deutlich sauren Reaktion versetzt und in 2 Portionen mit Wasserdampf destilliert, bis das Übergehende nicht mehr blaues Lackmuspapier rötete. Die vereinigten Destillate verbrauchten 12,9 ccm n-NaOH zur Neutralisation. Sie wurden dann auf dem Wasserbade unter Zugabe von noch 10 ccm n-NaOH eingeengt, d. h. mit überschüssigem Alkali versetzt, um eine Verflüchtigung der durch Dissoziation freiwerdenden Säure möglichst zu vermeiden. Abweichend vom Verlauf der Fäulnis bei den früher untersuchten gewöhnlichen Aminosäuren fanden wir hier beim cyclischen Prolin nur wenig Ameisensäure. Die kleine Quantität konnte daher in der folgenden einfachen Weise entfernt werden:

Die alkalische Lösung der flüchtigen Säuren wurde mit verdünnter Salpetersäure schwach angesäuert und mit einigen Tropfen Silbernitrat versetzt. Beim Kochen am Rückflußkühler wird die Ameisensäure zerstört; gleichzeitig werden Chlorspuren

[1]) E. Fischer und R. Boehner, Zeitschr. f. physiol. Chem. 65, 118, 1909.

beseitigt. Die filtrierte Flüssigkeit wird mit Ammoniak übersättigt, auf dem Wasserbade eingeengt, wobei der Ammoniaküberschuß entweicht, abermals filtriert und nunmehr mit konzentriertem Silbernitrat ausgefällt. Der nach einigen Stunden abgesaugte Niederschlag war rein weiß; nach dem Auswaschen mit Wasser, Alkohol und Äther sowie Trocknen im Dunkelexsiccator behielt er seine Farbe. Die Menge des so isolierten Silbersalzes betrug 2,30 g.

Eine Silberbestimmung lehrte, daß ein valeriansaures Silber vorlag.

0,1030 g Substanz lieferten 0,0535 g Ag.

$C_5H_9O_2Ag$. Ber. Ag = 51,67%;
gef. Ag = 51,94%.

Die ansehnliche Quantität des gewonnenen Silbersalzes gestattete uns festzustellen, welche von den isomeren Valeriansäuren vorlag.

Wir wählten hierzu die Überführung in das Calciumsalz. Die Kalksalze der verschiedenen Valeriansäuren zeigen nämlich folgende charakteristische Unterscheidungsmerkmale:

a) n-Valeriansaures Calcium hatte stets die Zusammensetzung $(C_5H_9O_2)_2Ca + H_2O$.

b) Isovaleriansaures Calcium scheidet sich aus kaltem Wasser in Form dicker Nadeln mit 3 Mol. Krystallwasser aus; aus heißem Wasser (oberhalb 46°) krystallisiert es dagegen mit 1 Mol. H_2O.

c) d, l-Methyläthylessigsaures Calcium krystallisiert bei 0° mit 5 Mol. H_2O, bei 25° mit 3 Mol. H_2O und bei 90° mit 1 Mol. H_2O aus.

Die Kalksalze der aktiven Formen verhalten sich wie die racemische Verbindung. Sie können jedoch aus der Betrachtung ausscheiden, da sich die bei der Prolinfäulnis gewonnene Valeriansäure als nicht drehend erwies.

d) Trimethylessigsaures Calcium krystallisiert mit 4 Mol. H_2O.

Es war also nur nötig, die Krystallisation des Calciumsalzes bei 25° vorzunehmen, um zu einem entscheidenden Ergebnis zu gelangen.

Wie bei der Konstitution der isomeren Valeriansäuren:

a) $CH_3—CH_2—CH_2—CH_2—COOH$ (n-Valeriansäure)

b) $\frac{CH_3}{CH_3}>CH—CH_2—COOH$ (Isovaleriansäure)

c) $\frac{CH_3}{C_2H_5}>CH—COOH$ (Methyl-äthylessigsäure)

d) CH_3, CH_3, CH_3 $\geq C—COOH$ (Trimethylessigsäure)

zu erwarten war, konnte aus Prolin

$$CH_2 — CH_2 — CH_2 — CH — COOH$$
$$\lfloor____________ NH$$

nur die normale Valeriansäure hervorgegangen sein.

Die Ausführung des Versuchs wurde folgendermaßen vorgenommen:

2,09 g Silbersalz, das fein zerrieben war, wurden in einem Rundkolben mit 20,0 ccm destilliertem Wasser übergossen. Nach Zugabe von 200 ccm $^n/_{20}$-HCl wurde am gut wirkenden Rückflußkühler $^1/_2$ Stunde unter häufigem Umschütteln gekocht. Nach dem Erkalten wurde vom Chlorsilber getrennt und die mit 100 ccm Wasser verdünnte Valeriansäurelösung 1 Stunde mit überschüssigem reinem Calciumcarbonat am Rückflußkühler gekocht. Die heiß filtrierte Flüssigkeit wurde auf dem Wasserbade in einer Porzellanschale eingeengt. Das auskrystallisierte Kalksalz wurde abgesaugt, nochmals in heißem Wasser gelöst und in einem auf 25° eingestellten Brutschrank unter einem Schutzdache der Krystallisation überlassen.

Die vor völliger Verdunstung abfiltrierten Krystalle hatten die Zusammensetzung $(C_5H_9O_2)_2Ca + H_2O$.

0,2020 g Substanz gaben bei der Krystallwasserbestimmung einen Verlust von

0,0142 g und lieferten
0,0430 g CaO (= 0,0307 g Ca).

$C_{10}H_{18}O_4Ca + H_2O$. Ber.: $H_2O = 6,92$; Ca = 15,46%,
Gef.: $H_2O = 7,03$; Ca = 15,20%.

Dadurch ist das Kalksalz mit Sicherheit als das der n-Valeriansäure gekennzeichnet. Im Einklange hiermit be-

obachtet man, daß sich die kalt gesättigte Lösung bei Erwärmen auf 60° trübt. Denn bei dieser Temperatur ist die Löslichkeit von n-valeriansauren Calcium geringer als in der Kälte.

Wie wir schon früher vorausgesagt haben[1]), ist die Valeriansäurefraktion der Fäulnisfettsäuren aus Proteinen ein Gemisch von Isomeren. Neben der damals von uns aufgefundenen d-Methyläthylessigsäure[2]) entsteht die n-Valeriansäure aus dem Prolin; und es kann kaum zweifelhaft sein, daß die von uns durch Valinfäulnis erhaltene Säure[3]) die Isovaleriansäure ist.

II. Der schwefelsaure Destillationsrückstand, aus dem die Valeriansäure abdestilliert war, wurde von der Schwefelsäure genau mit Baryt befreit und dann bei schwach salzsaurer Reaktion im Vakuum zur Trockne verdampft. Durch Extraktion mit siedendem Alkohol wurde dann eine Abtrennung der anorganischen Salze bewirkt. Der bei salzsaurer Reaktion erhaltene Abdampfrückstand wurde 3mal mit je 400 ccm siedendem absolutem Alkohol ausgezogen. Die alkoholischen Extrakte wurden auf dem Wasserbade verdunstet und der halb krystallinische Rückstand mit heißem Wasser aufgenommen. In der so erhaltenen Lösung der Chlorhydrate waren unverändertes Prolin und dessen ev. Umwandlungsprodukt, δ-Aminovaleriansäure, zu erwarten. Eine Trennung beider durch Phosphorwolframsäure ist nicht angängig. Denn beide Aminosäuren werden durch dieses Reagens gefällt. Nun hat E. Fischer[4]) gefunden, daß das Prolinphosphorwolframat in heißem Wasser löslich ist; aber auch die δ-Aminovaleriansäureverbindung ist, wie wir fanden, in der Siedehitze löslich.

Daher ist folgender Weg der Trennung eingeschlagen, der im wesentlichen auf der verschiedenen Fähigkeit beider Aminosäuren zur Komplexsalzbildung beruht, insbesondere die schon

---

[1]) C. Neuberg und E. Rosenberg, diese Zeitschr. 7, 180, 1907.

[2]) Vgl. auch S. 490.

[3]) C. Neuberg und L. Karczag, diese Zeitschr. 18, 435, 1909.

[4]) E. Fischer, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 34, 459, 1901; E. Fischer und G. Reif, Annal. 363, 118, 1908; vgl. auch S. P. L. Sörensen, Chem. Centralbl. 1905, II, 399.

von E. und H. Salkowski[1]) aufgefundene Eigenschaft der δ-Aminovaleriansäure benutzt, abweichend von den gewöhnlichen Aminosäuren kein Kupfersalz zu bilden.

Daher wurde aus der wässerigen Lösung der Aminosäurenchlorhydrate durch Schütteln mit Silberoxyd das Chlor entfernt. Nach Ausfällung des gelösten Silbers durch Schwefelwasserstoff wurde durch 1stündiges Kochen der von H_2S befreiten Flüssigkeit mit einem Überschuß an Kupfercarbonat eine tiefblaue Lösung erhalten. Beim Einengen krystallisierte alsbald in beträchtlicher Menge ein himmelblaues Kupfersalz aus. Durch Zusatz von absolutem Alkohol bis zu einem Gehalt der Mischung von 50% schied sich noch mehr Kupfersalz, mit ihm allerdings auch etwas tiefblauer Sirup ab. Die nach einigem Stehen abgegossene Flüssigkeit war nur ganz schwach grünlich gefärbt, einige Blasen Schwefelwasserstoff genügten zur Ausfällung sämtlichen Kupfers.

Die wasserklare Flüssigkeit wurde alsdann mit Salzsäure angesäuert und auf dem Wasserbade eingeengt. Der Rückstand krystallisierte fast gänzlich und war in heißem Alkohol vollständig löslich. Bei langsamer Verdampfung der alkoholischen Lösung schieden sich die typischen Krystalle von δ-Aminovaleriansäurechlorhydrat aus. Ihre Menge betrug 2,7 g.

Die konzentrierte wässerige Lösung wurde durch Goldchlorid, die alkoholische durch Platinchlorid gefällt. Zur Bestätigung wurde aus 1,5 g die früher von C. Neuberg und E. Rosenberg[2]) beschriebene α-Naphthylisocyanatverbindung[3]), $C_{10}H_7.NH.CO.NH-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-COOH$, hergestellt. Sie erwies sich mit ihr als völlig identisch und schmolz bei 194 bis 195°.

0,1602 g Substanz: 0,3936 g CO_2 und 0,0966 g H_2O,
0,1733 g Substanz: 14,1 ccm N (16°, 763 mm.).
$C_{16}H_{18}O_3N_2$. Berechnet: C = 67,13, H = 6,29, N = 9,79%.
Gefunden: C = 67,04, H = 6,71, N = 9,52%.

[1]) E. und H. Salkowski, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 16, 1191, 1883; E. Fischer und G. Zemplén, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 42, 4883, 1909.

[2]) C. Neuberg und E. Rosenberg, diese Zeitschr. 5, 458, 1907.

[3]) Die α-Naphthylisocyanat-δ-aminovaleriansäure ist ein leicht und nahezu quantitativ erhältliches Derivat der δ-Aminovaleriansäure; wegen ihrer Schwerlöslichkeit und ihres vortrefflichen Krystallisationsvermögens kann sie zur Charakterisierung dieser Aminosäure empfohlen werden.

Damit ist die Entstehung von δ-Aminovaleriansäure aus Prolin sichergestellt[1]).

Es wurde dann noch die zurückgewonnene Pyrrolidincarbonsäure (12,1 g) einer Prüfung auf etwa eingetretene optische Aktivität unterzogen.

Wie erwähnt, bildete racemisches Prolin das Ausgangsmaterial für den Fäulnisversuch. Die Tatsache, daß das zurückgewonnene Prolinkupfer in Alkohol praktisch unlöslich war, sprach von vornherein für das Vorliegen der inaktiven Verbindung. Denn nur ihr Kupfersalz[2]), nicht das der optisch-aktiven Form[3]), ist in Alkohol unlöslich. Die aus dem Kupfersalz mit H_2S freigemachte Pyrrolidincarbonsäure war völlig optisch-inaktiv; bei dem hohen Drehungsvermögen des aktiven Prolins ($[\alpha]_D = \pm 81^0$) wäre auch eine kleine Beimengung eines der optischen Antipoden leicht zu entdecken gewesen. Prolin wird demnach durch die Fäulnisbakterien nicht asymmetrisch angegriffen.

Unentschieden bleibt vorläufig, ob die n-Valeriansäure durch eine reduktive Desaminierung der zuvor gebildeten δ-Aminovaleriansäure entsteht, oder ob die n-Valeriansäure unmittelbar aus einem in anderer Weise zersetzten Teil des Prolins hervorgeht. Fäulnisversuche mit δ-Aminovaleriansäure sollen feststellen, ob diese Säure in n-Valeriansäure übergehen kann.

Anhang I.

α-Naphthyl-isocyanat-d,l-prolin.

Zum Vergleiche mit der α-Naphthylisocyanatverbindung der δ-Aminovaleriansäure wurde das bisher unbekannte α-Naphthylisocyanat-d,l-prolin hergestellt.

1,15 g inaktives Prolin wurden unter Zusatz von 10,0 ccm n-NaOH in 50 ccm Wasser gelöst und mit 2,0 g α-Naphthylisocyanat geschüttelt. Nach einer Stunde wurde vom Dinaphthylharnstoff abfiltriert und das klare Filtrat mit verdünnter Salzsäure angesäuert. Es entsteht sofort

---

[1]) Die α-Naphthylisocyanatverbindung des d,l-Prolins (s. Anhang I) hat ganz andere Eigenschaften; sie schmilzt mehr als 20° niedriger, und insbesondere fehlt ihr die charakteristische Fähigkeit, aus heißer ammoniakalischer Lösung durch verdünnte Essigsäure in langen feinen Nadeln ausgefällt zu werden.

[2]) E. Fischer, Zeitschr. f. physiol. Chem. **33**, 167, 1901.

[3]) E. Fischer und G. Reif, l. c.

eine dicke, weiße Fällung von α-Naphthyl-i-cyanatprolin. Dieselbe wird abgesaugt und aus verdünntem Alkohol umkrystallisiert; sie fällt dabei leicht amorph aus, kann durch langsame Verdunstung jedoch auch in kleinen Täfelchen erhalten werden. Ausbeute 80% der Theorie. Schmelzpunkt 171 bis 172° (nach vorherigem Sintern bei 168°), wenig löslich in kaltem Wasser, aber mehr in heißem, leicht in Aceton und Alkohol. Die reine Verbindung ist schneeweiß und lichtbeständig. Die heiße ammoniakalische Lösung wird durch Essigsäure nicht gefällt; offenbar ist die Hydantoinsäure in Ammoniumacetat löslich.

Die durch Kochen von überschüssigem Ammoniak befreite Lösung des Ammonsalzes wird durch Silbernitrat, Mercuriacetat, Bleizucker und essigsaures Quecksilber gefällt. Die Metallsalze sind in viel heißem Wasser löslich; Chlorbarium schlägt nicht nieder.

0,1153 g Substanz lieferten 0,2832 g CO_2 und 0,0592 g H_2O.
0,1275 g Substanz gaben 11,7 ccm N (20°, 732 mm.).

$C_{16}H_{17}N_2O_3$. Berechnet: C = 67,31; H = 5,96; N = 9,81%.
Gefunden: C = 67,00; H = 5,74; N = 10,12%.

Anhang II.

Zur Methodik der Fäulnisversuche mit einzelnen Aminosäuren.

Niemandem, der Fäulnisversuche mit einzelnen Eiweißspaltungsprodukten angestellt hat, ist es verborgen, daß isolierte Aminosäuren weit langsamer und unvollständiger als Proteine von Bakterien angegriffen werden; offenbar fehlen den Mikroorganismen gewisse Stoffe, die für ein schnelles Wachstum und Gedeihen erforderlich sind. Trotzdem ist es geboten, falls eindeutige Resultate erhalten werden sollen, von Zusätzen organischer Natur abzusehen. Das gilt namentlich für die Fälle, wo flüchtige Fettsäuren zu erwarten sind. Hierfür wäre z. B. die von Ackermann benützte Methodik ganz unbrauchbar. Ackermann läßt das Gemisch von Aminosäure mit etwa $^1/_5$ bis $^1/_7$ des Gewichtes Witte-Pepton und 30 bis 40% Traubenzucker faulen. Dabei können natürlich aus dem Kohlenhydrat wie den Bausteinen des Peptons unübersehbare Umwandlungsprodukte entstehen. Dagegen kann ich Ackermann durchaus zustimmen[1]), daß jene organischen Zusätze in vielen Fällen notwendig zu sein scheinen, um basische Spaltungsprodukte zu fassen; jedenfalls konnte ich aus d-Glutaminsäure, die ohne Pepton und Zucker der Fäulnis überlassen war, keine Spur von γ-Aminobuttersäure erhalten. Vielleicht spielt jedoch hierbei auch die Natur der Fäulnisbakterien eine Rolle, worauf die ungleichen Ausbeuten hinweisen, die man oft konstatieren kann. Die Vornahme der Versuche mit Reinkulturen wird aber durch die weit geringere Fäulnisenergie erschwert, die rein gezüchtete Bakterien einer einzelnen Aminosäure gegenüber zumeist aufweisen.

[1]) D. Ackermann, Zeitschr. f. physiol. Chem. 69, 273, 1910.

Über die Herkunft der optisch-aktiven Valeriansäure bei der Eiweißfäulnis.

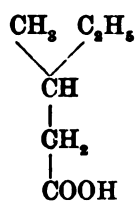
Von

Carl Neuberg.

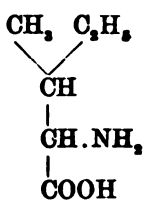
(Aus der chemischen Abteilung des Tierphysiologischen Instituts der Kgl. Landwirtschaftlichen Hochschule, Berlin.)

Gemeinsam mit E. Rosenberg habe ich gezeigt, daß unter den flüchtigen, bei der Eiweißfäulnis gebildeten Fettsäuren d-Valeriansäure und d-Capronsäure auftreten[1]). Gleich bei der Auffindung dieser Substanzen haben wir die Frage nach der Abstammung beider Säuren erörtert.

Für die opt.-aktive Capronsäure (d-Methyläthylpropionsäure) kann die Herkunft aus dem Isoleucin F. Ehrlichs nicht zweifelhaft sein, wie ein Blick auf die Formeln beider Substanzen lehrt:



(Methyl-äthyl-propionsäure)



(Isoleucin)

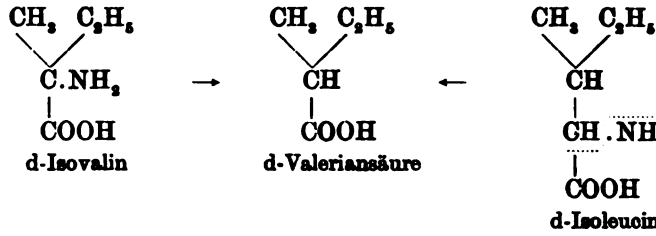
Die d-Capronsäure entsteht durch einfache desaminierende Reduktion aus dem d-Isoleucin, d. h. durch einen Vorgang, der bei der Fäulnis von Aminosäuren vielfach beobachtet worden ist.

Für die d-Valeriansäure (d-Methyläthylessigsäure) war an die Abstammung aus einer (freilich nicht als Eiweißspaltungsprodukt nachgewiesenen) entsprechenden Aminovaleriansäure, dem Isovalin, zu denken. In Betracht kam jedoch für die d-Valeriansäure auch das d-Isoleucin als Muttersubstanz. Denn

[1]) C. Neuberg und E. Rosenberg, diese Zeitschr. 7, 178, 1907.

durch den bei der Fäulnis von aromatischen und cyclischen Aminosäuren sowie von Aminodicarbonsäuren wohlbekannten Prozeß der Kohlenstoffkettenverkürzung könnte diese Aminosäure ebenfalls d-Valeriansäure liefern.

Um zwischen diesen beiden Bildungsmöglichkeiten



zu entscheiden, wurde ein Fäulnisversuch mit reinem d-Isoleucin vorgenommen.

Da bekanntlich die Leucinfraktion der Proteine ein schwierig aufzuteilendes Gemisch von Leucin, Isoleucin und Valin darstellt, war ein sicher von Isomeren oder Homologen freies Präparat nur in synthetischem Material gegeben.

Letzteres stellten wir aus sek. Butylmalonsäure, gewonnen nach der Vorschrift von Neuberg und Rewald[1]), unter Benutzung der Angaben von F. Ehrlich[2]) bzw. E. Friedmann und W. Brasch[3]) sowie von R. Locquin[4]) dar. Das erhaltene d-Isoleucin hatte die Drehung $[\alpha]_D = +40{,}08°$ in HCl von 20%.

26,2 g d-Isoleucin wurden in 2,6 l Wasser unter Zusatz von Soda bis zur deutlich alkalischen Reaktion gelöst und nach Zugabe von etwas anorganischen Nährsalzen (je 2 Tropfen gesättigter Lösungen von KCl, K_2HPO_4, $MgSO_4$) mit einer nach E. Salkowskis Angaben bereiteten Fäulnismischung geimpft.

Die in den ersten Tagen verschwindende alkalische Reaktion wurde mehrmals durch erneuten vorsichtigen Zusatz von Natriumcarbonat wieder hergestellt. Obgleich vom elften Tage ab die Reaktion unverändert blieb, wurde der Fäulnisversuch auf 23 Tage ausgedehnt. Dann wurde das Gemisch ohne vorherige Filtration mit verd. Schwefelsäure ordentlich angesäuert und

[1]) C. Neuberg und B. Rewald, diese Zeitschr. 9, 403, 1908.

[2]) F. Ehrlich, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 41, 1453, 1908.

[3]) W. Brasch und E. Friedmann, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 11, 376, 1908.

[4]) R. Locquin, Bull. soc. chim. [IV] 1, 595, 1907.

im Dampfstrom destilliert, bis die übergehende Flüssigkeit nicht mehr sauer reagierte. Hierzu waren 52 Stunden erforderlich. Das intensiv valeriansäureähnlich riechende Destillat verbrauchte 55 ccm 2 n-NaOH zur Neutralisation; es wurden noch weitere 25 ccm n-NaOH zugegeben und die alkalische Flüssigkeit auf ca. 60 ccm eingeengt. Nach dem Abkühlen wurde die Lösung der Alkalisalze mit Schwefelsäure übersäuert und gründlich mit niedrig siedendem Petroläther ausgeschüttelt. Die Petrolätherauszüge wurden mit geglühtem Natriumsulfat durchgeschüttelt und durch Destillation auf dem Wasserbade zunächst vom Gasolin befreit. Die ganze Destillation wurde in einem kleinen Fraktionierkolben vorgenommen und der Rückstand alsdann unter Benutzung eines Mikro-Dreikugelrohres vorsichtig abdestilliert.

Bis 101° gingen einige Tröpfchen über, dann stieg das Thermometer schnell auf 171°, wobei auch nur einige Tropfen abdestillierten. Die Hauptmenge siedete zwischen 171 und 177° (Fraktion I). Dann stieg das Thermometer wiederum ziemlich schnell, um bei 194 bis 198° abermals eine deutliche Fraktion zu bilden (Fraktion II). Ein höher siedendes Destillat konnte nur in Form winziger Tröpfchen erhalten werden.

Fraktion I wog 5,12 g,
„ II „ 1,82 g.

Das Gewicht der unscharf zwischen 178 und 193° siedenden Menge betrug 0,80 g. Die bis 101° übergegangene Flüssigkeit zeigte Geruch und Reaktionen der Ameisensäure, die zwischen 102 und 170° aufgefangene Quantität war zu gering, um eine Identifizierung zu gestatten.

Die Hauptfraktion (I) wurde zunächst polarisiert; sie zeigte

$$[\alpha]_D^{17} = +16{,}51°$$
$$(\alpha = 15{,}52°,\ l = 1,\ d = 0{,}94,\ p = 100).$$

Durch erneute Destillation wurden 4,1 g einer bei 173 bis 175° siedenden Flüssigkeit von intensivem Baldriangeruch erhalten. Das Drehungsvermögen war durch die Rektifikation nicht gestiegen.

Ein Teil der Säure wurde über das Ammoniumsalz in das Silbersalz übergeführt, das scharf auf valeriansaures Silber stimmende Zahlen ergab.

0,2332 g Substanz lieferten 0,1208 g Ag;
0,1870 g „ „ 0,1971 g CO_2 und 0,0709 g H_2O.

$C_5H_9O_2Ag$. Ber.: Ag = 51,67, C = 28,71, H = 4,31%.
Gef.: Ag = 51,81, C = 28,91, H = 4,23%.

Für die reinste optisch-aktive Valeriansäure berechnet sich nach W. Marckwald[1]) die spezifische Drehung

$$[\alpha]_D = \pm 18{,}74^\circ,$$

so daß in der aus Isoleucin erhaltenen Säure eine zu 90% optisch-aktive d-Valeriansäure vorliegt. Kleine Beimengungen von inaktiver Form, dem nicht 100%igen Ausgangsmaterial entstammend, namentlich aber wohl eine analytisch nicht nachweisbare Beimischung von d-Capronsäure sind die Gründe, daß die optische Aktivität nicht voll der theoretischen entspricht. Übrigens gibt Taverne[2]) für die aus dem Convolvulin isolierte d-Valeriansäure die spezifische Drehung $[\alpha]_D = +17{,}30^\circ$ an, und für eine aus dem Champacablütenöl isolierte Säure ist nach Schimmel & Co.[3]) $[\alpha]_D = +16{,}40^\circ$; hiermit würde unser Wert noch besser stimmen.

Die zweite Fraktion wurde ohne weitere Reinigung polarisiert. In einer Lösung von (an sich natürlich nicht drehendem) Petroläther war

$$[\alpha]_D^{17} = +8{,}04^\circ.$$

Zur Analyse wurde auch hier ein Teil in das Silbersalz verwandelt.

0,1005 g Substanz ergaben 0,0488 g Ag;
0,2236 g „ „ 0,2663 g CO_2 und 0,1040 g H_2O;
0,1122 g „ „ 0,0527 g H_2O[4]).

$C_6H_{11}O_2Ag$. Ber.: Ag = 48,43, C = 32,29, H = 4,93%.
Gef.: Ag = 48,56, C = 32,48, H = 5,17%,
H = 5,22%.

---

[1]) W. Marckwald, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 37, 1045, 1904.
[2]) H. J. Taverne, Rec. des trav. chim. 13, 187, 1894.
[3]) Nach freundlicher Auskunft der Firma ist die Angabe im Biochem. Handlexikon 1, II, 984 irrig, daß die betreffende Säure die l-Modifikation sei. In der Natur ist bisher stets die d-Form gefunden, die auch durch Oxydation des natürlichen Amylalkohols entsteht.
[4]) Die Kohlenstoffbestimmung ging verloren.

Es lag somit d-Capronsäure (d-β,β_1-Methyläthylpropionsäure) vor, die in ganz reinem Zustande[1]) die spezifische Drehung 8,98° besitzt.

Mit Sicherheit ergibt sich aus den mitgeteilten Versuchen, daß natürliches Isoleucin durch Fäulnis optisch-aktive Capronsäure und ebensolche Valeriansäure liefern kann.

Bei der bakteriellen Zersetzung des Isoleucins für sich überwiegt deutlich die Kohlenstoffkettenverkürzung (zur d-Valeriansäure) den Vorgang der desaminierenden Hydrierung (Bildung von d-Capronsäure). Der Übergang in die beiden Fettsäuren tritt offenbar in beträchtlichem Umfange ein. Theoretisch können die angewandten 26,2 g Isoleucin 20,4 g Valeriansäure oder 23,2 g Capronsäure liefern. Im ganzen ergab der Fäulnisversuch 7,74 g flüchtige Säuren. Wieviel vom Ausgangsmaterial unzerlegt geblieben ist, kann leider nicht angegeben werden, da die Bestimmung der unangegriffenen Quantität Isoleucin im schwefelsauren Destillationsrückstande durch die Untersuchung auf andere Umwandlungsprodukte vereitelt wurde; qualitativ konnte die Gegenwart von unverändertem Isoleucin sichergestellt werden.

Es sei schließlich noch erwähnt, daß bereits im Jahre 1876 M. v. Nencki[2]) einen Fäulnisversuch mit „Leucin" (aus Hornspänen) ausgeführt hat. Unter Zurückrechnung einer kleinen, nicht angegriffenen Leucinmenge hat v. Nencki einen fast quantitativen Abbau[3]) zu „Valeriansäure" beobachtet. Über die Konstitution der letzteren, sowie über die Natur des als Ausgangsmaterial benutzten „Leucins" macht v. Nencki keine näheren Angaben; er bemerkt jedoch, daß sein Leucin ein Isomeres enthalte, von dem sich dieselbe optisch-aktive Valeriansäure ableiten müsse, wie sie aus Fuselöl erhältlich ist. Ohne Zweifel hat Nencki Gemische in Händen gehabt; auf die Bildung von Capronsäure scheint er überhaupt seine Aufmerksamkeit nicht gerichtet zu haben. Dagegen hat P. Nawiasky[4]) bei der Um-

[1]) C. Neuberg und B. Rewald, diese Zeitschr. 9, 410, 1908.

[2]) M. v. Nencki, Festgabe an G. Valentin von der med. Fakultät in Bern, 1876.

[3]) Einen solchen haben wir nicht erreicht; die von Nencki noch gefundene Buttersäure könnte vielleicht durch ganz analogen Abbau aus Valin hervorgegangen sein, mit dem wohl zweifellos seine Leucinfraktion verunreinigt war.

[4]) P. Nawiasky, Arch. f. Hygiene 68, 235, 1908.

setzung von Leucin durch den Bac. proteus vulgaris neben Valeriansäure auch Capronsäure gefunden, macht jedoch ebenfalls keinerlei Angaben über die Natur dieser Fettsäuren sowie über die Zusammensetzung seines Ausgangsmaterials.

Die vorstehend mitgeteilten Versuche lehren, daß auch bei der Fäulnis einer einzelnen Aminosäure optisch-aktive Umwandlungsprodukte auftreten können, wie ich es für die bakterielle Zersetzung von Gesamtproteinen seit dem Jahre 1906 wiederholt zeigen konnte[1]). Es ist daher befremdlich, daß Ackermann[2]) noch vor kurzem als charakteristisches Merkmal aller bekannten Eiweißfäulnisprodukte das mangelnde Drehungsvermögen hinstellt und an diesen Punkt teleologische Betrachtungen knüpft. Daß die meisten Eiweißfäulnisprodukte optisch-inaktiv sind, ist selbstverständlich und eine Forderung der Theorie; sowie jedoch die Konfiguration ein Drehungsvermögen gestattet, tritt es auch auf, wie gerade die Beispiele von d-Valeriansäure und d-Capronsäure dartun.

[1]) Siehe die Literatur S. 490.

[2]) D. Ackermann, Zeitschr. f. physiol. Chem. 60, 501, 1909.

Wird d-Ornithin bei der Fäulnis racemisiert?

Von

Carl Neuberg.

(Aus der chemischen Abteilung des Tierphysiologischen Instituts der Kgl. Landwirtschaftlichen Hochschule, Berlin.)

Vor einigen Jahren hat D. Ackermann[1]) mitgeteilt, daß bei der Fäulnis von rechtsdrehendem Arginin optisch-inaktives Ornithin auftrete.

Diese überraschende Angabe ist die Veranlassung gewesen, zu prüfen, ob etwa fertiges d-Ornithin bei der Fäulnis racemisiert werde. Denn man muß sich wohl vorstellen, daß unter dem Einflusse der Fäulniserreger durch Arginasewirkung[2]) im Sinne A. Kossels zunächst das d-Arginin in Harnstoff und d-Ornithin gespalten werde.

Der Versuch wurde mit d-Ornithindichlorid in der üblichen Weise ausgeführt, jedoch die Wiedergewinnung des Ornithins in besonders vorsichtiger Weise vorgenommen.

Wie A. Ellinger[3]) gezeigt hat, bleibt bei aerober Bakterieneinwirkung die größte Menge des Ornithins unangegriffen und läßt sich wiedergewinnen; nur ca. 12% gehen in Tetramethylendiamin über.

Um die Versuchsbedingungen Ackermanns im übrigen möglichst einzuhalten, wurde die Fäulnis durch ein Pankreasstückchen angeregt und bei schwach sodaalkalischer Reaktion 16 Tage im Gang gelassen. Die Temperatur betrug dauernd 37° (Ackermann spricht nur von einem warmen Ort, wir zogen die Benutzung eines Brutschrankes vor).

---

[1]) D. Ackermann, Zeitschr. f. physiol. Chem. 56, 310, 1908.

[2]) A. Kossel und H. D. Dakin, ebendas. 41, 321, 1904; 42, 181, 1904.

[3]) A. Ellinger, ebendas. 29, 340, 1900.

Wir gingen von 1,85 g d-Ornithinchlorid[1]) aus. Am 17. Tage wurde die Lösung mit verdünnter Salzsäure angesäuert, aufgekocht und filtriert. Zur Entfernung ätherlöslicher Substanzen wurde 3mal mit Äther ausgeschüttelt. Die wässerige Lösung wurde alsdann in vacuo bei 35° eingedampft und der hinterbleibende Rückstand 5mal mit siedendem absoluten Methylalkohol ausgezogen. In heißem Holzgeist ist das Chlorid des Ornithins löslich, während die anorganischen Salze zurückbleiben. Die methylalkoholischen Auszüge wurden alsdann vereinigt und im Vakuum völlig zur Trockne verdampft. Der Rückstand wurde in wenig Wasser gelöst und mit gesättigter wässeriger Pikrinsäurelösung gefällt. Der nicht bedeutende Niederschlag, der wohl Tetramethylendiaminpikrat enthielt, wurde nicht näher untersucht. Das Filtrat wurde salzsauer gemacht, zur Entfernung der Pikrinsäure mehrfach ausgeäthert und nach Schütteln mit einer Messerspitze Tierkohle schließlich wiederum in vacuo eingedampft. Beim Stehen im Exsiccator schieden sich nach einiger Zeit Krystalle aus, die nach Zugabe von Äthylalkohol sich noch vermehrten. Nach dem Absaugen stellten sie reines d-Ornithindichlorid, $(COOH—CH.NH_2—CH_2—CH_2—CH_2.NH_2)\,2HCl$, dar. Die Menge betrug 0,51 g.

Diese dienten für die polarimetrische Prüfung; es ergab sich:

$$[\alpha]_D^{16} = +15{,}33°$$
$$(\alpha = +1{,}54°,\ l = 2,\ c = 5{,}02).$$

Für reines d-Ornithindichlorid geben E. Schulze und E. Winterstein[2]) den Wert $+15{,}64°$ bis $+16{,}80°$ an.

Zwecks weiterer Identifizierung wurde die zur Polarisation verwendete Lösung wiederum vorsichtig verdunstet und in dem wiedergewonnenen Chlorid der N- und Cl-Gehalt ermittelt.

0,1014 g Substanz gaben 0,1406 g AgCl (= 0,0348 g Cl).

0,1184 g Substanz [nach Sörensen und Andersen[3]) analysiert] verbrauchten 11,2 ccm $^n/_{10}$-H_2SO_4 (= 0,01568 g N).

$C_5H_{12}N_2O_2.2HCl$. Ber.: Cl = 34,63%, N = 13,66%;
gef.: Cl = 34,32%, N = 13,24%.

[1]) Das ist mehr als die doppelte Menge, die Ellinger (l. c.) angewendet hat.

[2]) E. Schulze und E. Winterstein, Zeitschr. f. physiol. Chem. 34, 128, 1901.

[3]) S. P. L. Sörensen und A. C. Andersen, ebendas. 44, 429, 1905.

Die zurückgewonnene Substanz ist also mit aller Schärfe als d-Ornithinchlorid gekennzeichnet. Nimmt man alle Einengungen bei niedriger Temperatur vor und vermeidet jede Behandlungen mit Baryt, so findet keine Bildung racemischen Ornithins aus der aktiven Form statt. Es läßt sich schwer beurteilen, wieso Ackermann zu einem inaktiven Präparat gelangt ist. Man wird wohl doch an eine künstliche Racemisierung des Ornithins bei seiner Versuchsanordnung denken müssen[1]); freilich ist nach den eingehenden Versuchen von A. Kossel und F. Weiß[2]) sowohl freies (d. h. nicht in Peptidbindung vorhandenes) d-Arginin wie d-Ornithin gar nicht besonders leicht racemisierbar. Daß die überhaupt nicht am asymmetrischen Kohlenstoffatom sich vollziehende Umwandlung des Guanidinrestes in die Aminogruppe an der Entstehung von d,l-Ornithin aus d-Arginin schuld sein sollte, ist um so weniger wahrscheinlich, als Ackermann[3]) auch den Übergang von aktivem Lysin in inaktives bei der Fäulnis behauptet.

[1]) Vgl. S. P. L. Sörensen und A. C. Andersen, Zeitschr. f. physiol. Chem. 56, 249, 1908.

[2]) A. Kossel und F. Weiß, ebendas. 59, 497, 1909.

[3]) D. Ackermann, ebendas. 60, 493, 1909.

Schlußbemerkung zu den Ausführungen von Ferdinand Blumenthal, Bd. 35, S. 503, betreffend:

Biochemische Untersuchungen über aromatische Quecksilberverbindungen.

Von

Walther Schrauth und Walter Schoeller.

(Eingegangen am 7. November 1911.)

Ferdinand Blumenthal hat auf unsere Bemerkungen zu seiner Arbeit über aromatische Quecksilberverbindungen (diese Zeitschr. 32, 59ff.) seinerseits eine Erwiderung bekannt gegeben, der gegenüber wir zunächst noch einmal auf unsere ersten Bemerkungen (diese Zeitschr. 32, 509ff.) zurückgreifen müssen. Wir verfolgten damals den Zweck, die durch die Einleitung der Arbeit Blumenthals bei dem Leser möglicherweise erweckte irrige Vorstellung, als handle es sich in jenen Untersuchungen um einen neuen Gedankengang, in die richtigen Grenzen zurückzuweisen. Unsere damaligen Ausführungen wollten jedenfalls in keiner Weise das Asurol betont wissen, sondern lediglich die Gedankenfolge, die uns veranlaßt hat, wasserlösliche, aromatische, komplexe Quecksilberverbindungen für therapeutische Zwecke darzustellen, und diese deckt sich in der Hauptsache mit den um $1^1/_2$ Jahre später erschienenen Ausführungen Blumenthals.

Blumenthal hat nun neuerdings einen Prioritätsanspruch aufrechterhalten, der die amidierten Quecksilbercarbonsäuren betrifft, die vor ihm von niemandem auf ihre Brauchbarkeit geprüft seien; irgendeine Berührung mit unseren Arbeiten vermag er nicht zu finden.

Um der Behauptung Blumenthals entgegenzutreten, daß wir den therapeutischen Wert einer geschickten Neben-

gruppierung im Benzolkern der von uns zuerst systematisch geprüften Quecksilbercarbonsäuren und insonderheit den Einfluß der Amidogruppe unterschätzten, möchten wir hier ausdrücklich darauf hinweisen, daß wir in unseren bakteriologischen und pharmakologischen Untersuchungen über komplexe Quecksilberverbindungen (Zeitschr. f. Hygiene u. Infektionskrankh. 66, 497ff. und 70, 24ff.; diese Zeitschr. 33, 381ff.) auf solche Nebengruppierung stets den größten Wert gelegt und durch eine Prüfung der mercurierten Anthranilsäure und ihrer Substitutionsprodukte gerade auch die Amidogruppe weitgehend berücksichtigt haben. Schon in unserer ersten Mitteilung über die Desinfektionskraft komplexer organischer Quecksilberverbindungen (August 1910), in der wir gewissermaßen das Programm unserer Untersuchungen entwickelt haben, schrieben wir, daß wir, ausgehend von dem Natriumsalz einer mercurierten Benzoesäure, unter anderem prüfen wollten, welche Wirkung in den Benzolkern eingeführte Substituenten auslösen, da die Konstitution des Gesamtmoleküls für die Wirkung von entscheidender Bedeutung sei.

Unserer Ansicht nach ist somit die Berührung zwischen den Untersuchungen Blumenthals, die sich bisher mit einer mercurierten p-Amidobenzoesäure beschäftigen, und den unserigen eine denkbar weitgehende!

Wenn es nun auch im Bereich der biochemischen Forschung eine Reservierung von Arbeitsgebieten nicht in dem Maße gibt, wie es beispielsweise bei rein chemischen Untersuchungen Brauch ist, so dürfen wir hier zum Schluß aber doch wohl der Hoffnung Ausdruck geben, daß Blumenthal bei seinen in Aussicht gestellten weiteren Untersuchungen unsere Arbeiten ein zweites Mal nicht übergeht.

Autorenverzeichnis.

Andersen, A. C. Notiz über den Nachweis und die Bestimmung des Harnzuckers. S. 262.

Bardach, Friedrich, siehe Ditz und Bardach.

Bubanović, F. Über den Blutfarbstoffaustritt unter dem Einfluß des Kohlenmonoxydes. S. 139.

Costantino, A. Über den Gehalt der (weißen und roten) quergestreiften und glatten Muskeln verschiedner Tiere an Kalium, Natrium und Chlor. S. 52.

Ditz, Hugo, und Friedrich Bardach. Über die Bestimmung von Phenol und Parakresol in ihren Gemischen. S. 272.

Endo, Shigekiyo, siehe Shibata und Endo.

Euler, Hans, und Hjalmar Ohlsén. Über den Einfluß der Temperatur auf die Wirkung der Phosphatese. S. 313.

Fingerling, Gustav. Die Verwertung der in den Futtermitteln enthaltenen Phosphorverbindungen durch Wiederkäuer. S. 266.

— und A. Hecking. Zur Frage der quantitativen Trennung der organischen Phosphorverbindungen von den Phosphaten in Futtermitteln. S. 452.

Forssman, J. Die Herstellung hochwertiger spezifischer Schafhämolysine ohne Verwendung von Schafblut. S. 78.

Hecking, A., siehe Fingerling und Hecking.

Ishida, Migaku, siehe Neuberg und Ishida.

Kanitz, Aristides. Bezüglich des Reaktionsoptimums bei der Invertinwirkung. S. 50.

Karczag, L., siehe Neuberg und Karczag.

Kepinow, Leon. Über Beeinflussung der Autolyse durch Jod. S. 238.

Loeb, Jacques, und Hardolph Wasteneys. Die Beeinflussung der Entwicklung und der Oxydationsvorgänge im Seeigelei (Arbacia) durch Basen. S. 410.

Michaelis, L. und P. Rona. Über die Verteilung der reduzierenden Substanzen im Säugetierblut. S. 47.

Murschhauser, H., siehe Schloßmann und Murschhauser.

Neuberg, Carl. Biochemische Umwandlung von α-Pyrrolidincarbonsäure in n-Valeriansäure und δ-Aminovaleriansäure. S. 490.

— Über die Herkunft der optisch-aktiven Valeriansäure bei der Eiweißfäulnis. S. 501.

— Wird d-Ornithin bei der Fäulnis racemisiert? S. 507.

— und Migaku Ishida. Die Bestimmung der Zuckerarten in Naturstoffen. S. 142.

— und L. Karczag. Über zuckerfreie Hefegärungen. VI. S. 170.

Ohlsén, Hjalmar, siehe Euler und Ohlsén.

Palitzsch, Sven. Über die Messung und die Größe der Wasserstoffionenkonzentration des Meerwassers. S. 116.

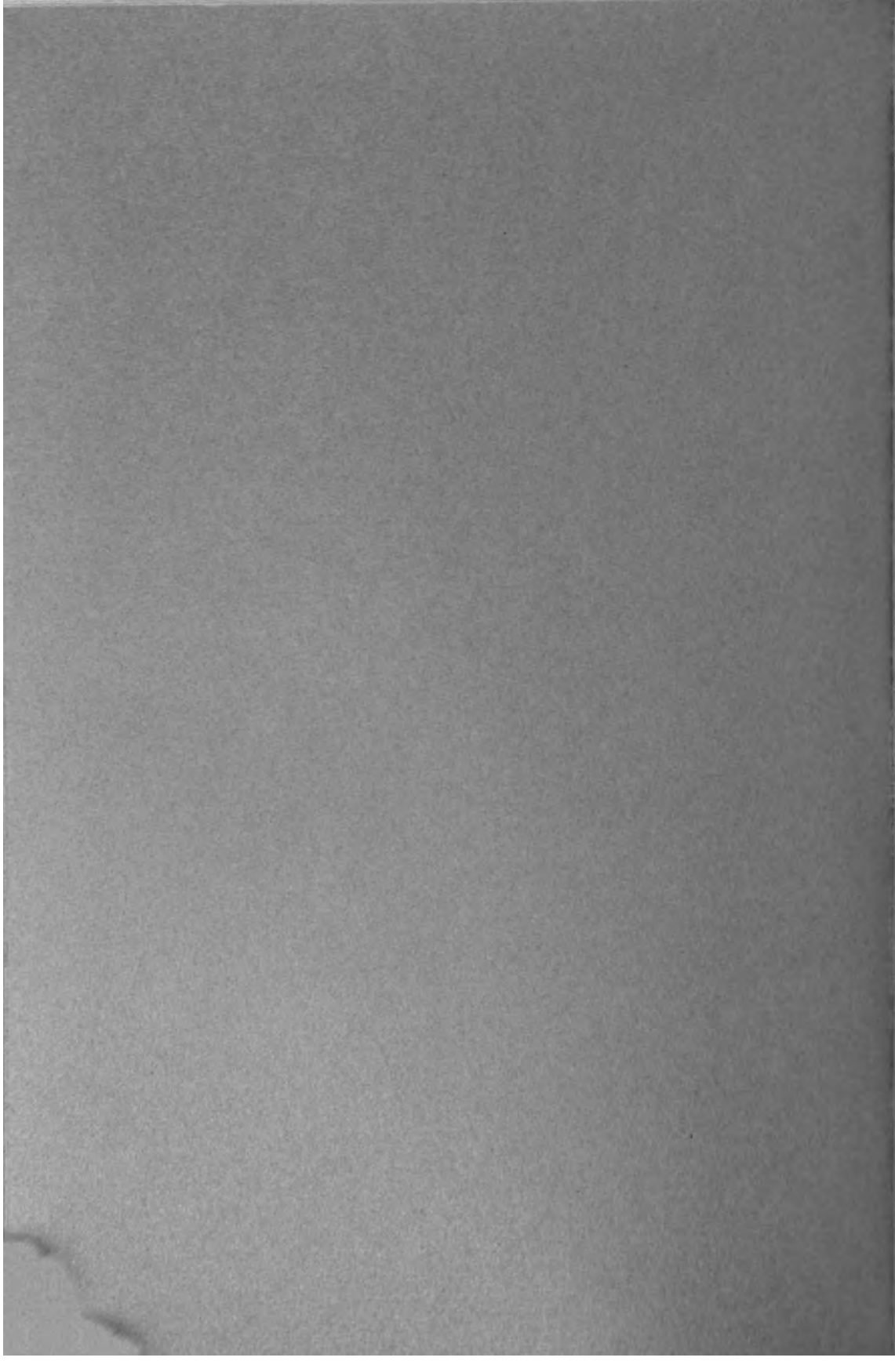
— Über die Verwendung von Methylrot bei der colorimetrischen Messung der Wasserstoffionenkonzentration. S. 131.

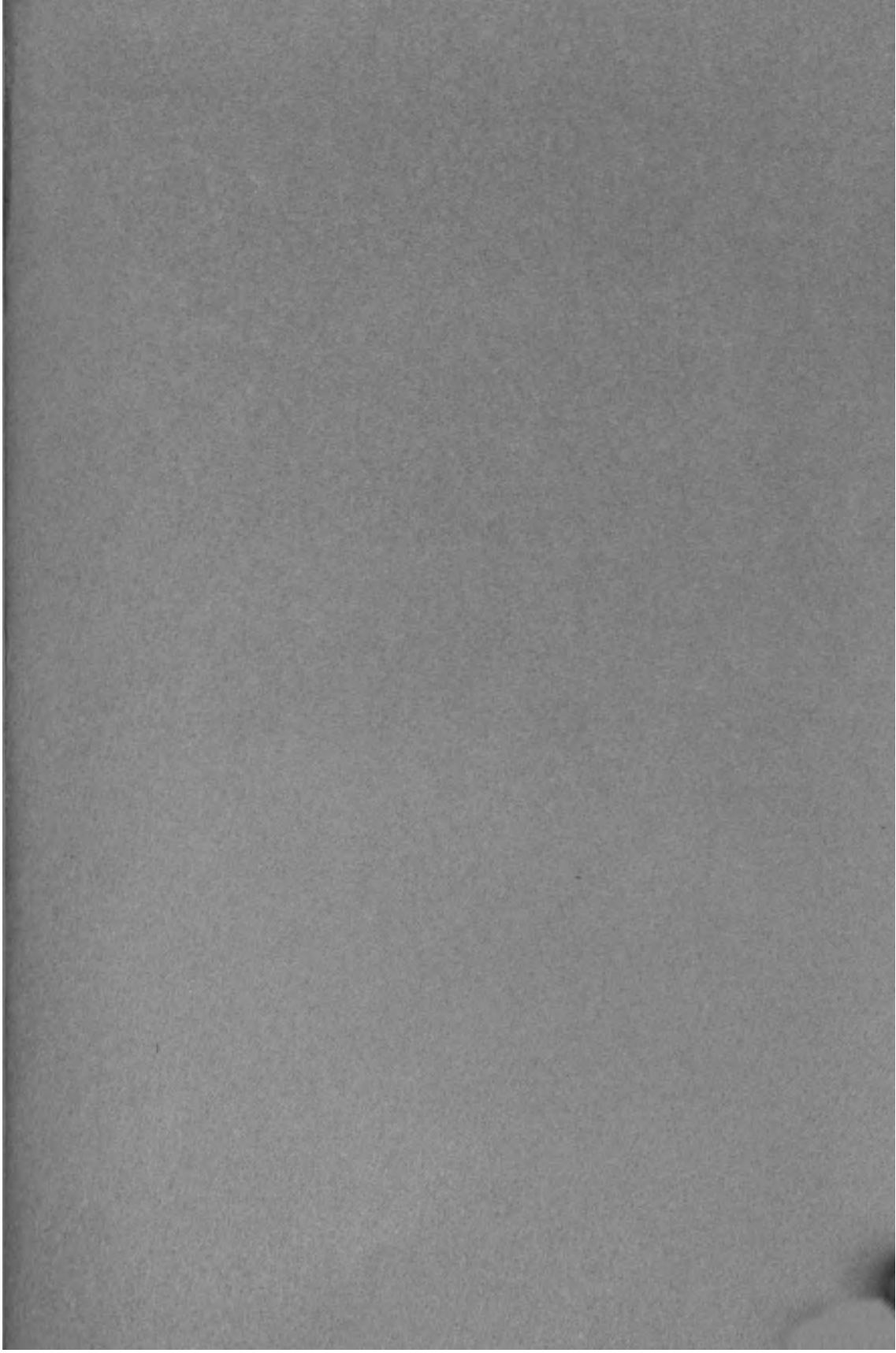
Reicher, K. und E. H. Stein. Beiträge zur Physiologie und Pathologie des Kohlenhydratstoffwechsels. S. 321.

Rona, P., siehe Michaelis und Rona.

Schloßmann, A., und H. Murschhauser. Über den Einfluß mäßiger Temperaturschwankungen der

umgebenden Luft auf den respiratorischen Stoffwechsel des Säuglings. S. 1.
— — Über den Einfluß des Schreiens auf den respiratorischen Stoffwechsel des Säuglings. S. 23.
Schoeller, Walter, siehe Schrauth und Schoeller.
Schorr, Carl, Untersuchungen über physikalische Zustandsänderungen. XII. Über Eigenschaften der Eiweißionen. S. 424.
Schrauth, Walther, und Walter Schoeller. Schlußbemerkung zu den Ausführungen von Ferdinand Blumenthal, betreffend: Biochemische Untersuchungen über aromatische Quecksilberverbindungen. S. 510.
Schwarz, Carl. Über die Quellung und Entquellung ruhender und tätig gewesener Froschmuskeln in isotonischen Kochsalzlösungen. S. 34.
Shibata, Nagamichi. Ein experimenteller Beitrag zur Kenntnis der Fettwanderung bei der Phosphorvergiftung mit Berücksichtigung der Herkunft des Fettes im Tierorganismus. S. 345.
— und Shigekiyo Endo. Vergleichende histologische und chemische Untersuchungen über den Fettgehalt der inneren Organe. S. 399.
Stein, E. H., siehe Reicher und Stein.
Stromberg, Heinrich. Methodisches über Blutgerinnung, nebst Bemerkungen über das Wesen des Gerinnungsvorganges. S. 177.
— Veränderungen der Blutgerinnung durch Blutverluste. S. 218.
Takahashi, Dengo. Bemerkungen zur Zuckerbestimmung im Blute. S. 30.
Tanaka, Tamio. Zur Kenntnis der Milzenzyme. S. 249.
Ustjanzew, W. Die energetischen Äquivalente der Verdauungsarbeit bei den Wiederkäuern (Schafe). S. 457.
Wasteneys, Hardolph, siehe Loeb und Wasteneys.
White, George F. Ein neues Viscosimeter und seine Anwendung auf Blut und Blutserum. S. 482.
Yoshimura, Kiyohisa, Über das Vorkommen einiger organischer Basen im Fleisch des Wildkaninchens. S. 477.





UNIVERSITY OF CALIFORNIA
MEDICAL SCHOOL LIBRARY

THIS BOOK IS DUE ON THE LAST DATE STAMPED BELOW

Books not returned on time are subject to a fine of 50c per volume after the third day overdue, increasing to $1.00 per volume after the sixth day. Books not in demand may be renewed if application is made before expiration of loan period.

7 DAY

OCT 15 1965

RETURNED

OCT 15 1965

3m-8,'38(3929s)

STACKS

v.37 Biochemische zeitschrift.
1911

44951

RARY